

UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE

Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular



# **Contribución de la codificación, el sueño y el recuerdo intencionado a la consolidación de la memoria declarativa**

Tesis Doctoral

presentada por

**Daniel Baena Pérez**

Dirigida por

**Dra. Mercedes Atienza Ruiz**

**Dr. José Luis Cantero Lorente**

Sevilla, 2021





Dña. Mercedes Atienza Ruiz y D. José Luis Cantero Lorente, ambos Profesores Catedráticos de Universidad del Área de Fisiología, del Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular, perteneciente a la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla,

CERTIFICAN:

Que D. Daniel Baena Pérez ha realizado bajo su dirección el presente trabajo de Tesis titulado "*Contribución de la codificación, el sueño y el recuerdo intencionado a la consolidación de la memoria declarativa*". Este trabajo reúne las condiciones académicas exigidas para optar al Grado de Doctor por la Universidad Pablo de Olavide, de Sevilla.

Y para que así conste, firmamos el presente documento en Sevilla, a 11 de mayo de 2021

Fdo.: Dra. Mercedes Atienza Ruiz

Fdo.: Dr. José Luis Cantero Lorente

Fdo.: Daniel Baena Pérez





*A mis padres, gracias por el apoyo a pesar de las adversidades*  
*A mi futura esposa Mar García*  
*A Trufa*



## ***Agradecimientos***

Va a resultar extraño escribir un párrafo sin tener que preocuparme de referenciar cada frase que escribo. Echaba de menos esta sensación, espero no haber perdido la práctica. Han pasado cinco años y cinco meses desde que empecé mi aventura como doctorando. Por costumbre, cuando he cerrado etapas de mi vida tan largas y relevantes tiendo a ponerme nostálgico y esta no es una excepción. Aunque no ha sido un camino fácil de completar ni mucho menos, lo que es innegable es que no habría sido posible de no ser por las siguientes personas.

Quiero agradecer en primer lugar a mis directores de tesis, Mercedes Atienza y José Luis Cantero, el haberme brindado la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación. Ello me ha permitido desarrollarme profesionalmente a unos niveles que jamás habría pensado que alcanzaría.

También quiero dar las gracias a todos y cada uno de los integrantes del Laboratorio de Neurociencia Funcional que han hecho posible que el presente trabajo de tesis salga adelante. Especial mención a Sofia Rodriguez y nuestros clásicos viernes de formateo de ordenadores y su apoyo junto a Miriam Palomar y Ana Isabel Navarro en la adquisición de datos de sueño. Gracias a la nueva generación compuesta por Maria Baena, Marina Fernández y Karel López. A pesar de conocerlos en los últimos años de doctorado (al menos a dos de vosotros), responder a vuestras dudas y compartir conocimientos me hizo ser consciente de lo mucho que había aprendido y supuso una inyección de ánimo cuando más lo necesitaba.

Fuera del ámbito laboral, no puedo olvidar a Mar García. Tuve la enorme suerte de conocerte poco antes de empezar esta etapa y de tenerte como apoyo en el transcurso de la misma. Por todas las tardes de ilusión compartida a raíz de buenos resultados; por el apoyo cuando meses y meses de trabajo parecían haber sido en vano; por ser capaz de cambiar mi estado de ánimo después de hacer noches en el laboratorio; y por aguantar mis monólogos producto de las diversas crisis de fé en el mundo científico. Gracias.

Por supuesto, este episodio de mi vida es fruto del apoyo incondicional de mi familia y mis padres. Gracias por este apoyo continuo del que he disfrutado durante toda mi etapa de formación académica y que habéis priorizado por encima de temas más urgentes.



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
RESUMEN / SUMMARY	11
1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. Diferentes visiones acerca de la consolidación a nivel de sistema	18
1.2. Mecanismos cerebrales responsables de los procesos de consolidación <i>offline</i>	24
1.2.1. <i>Reactivación durante el sueño de engramas y patrones de actividad neural generados durante la codificación</i>	27
1.2.2. <i>Sincronización entre sistemas hipocampales, tálamo-corticales y córtico-corticales</i>	33
1.3. Mecanismos cerebrales responsables de la consolidación de la memoria asociada al recuerdo intencionado durante la codificación	43
2. PLANTEAMIENTO DE OBJETIVOS E HIPÓTESIS	49
2.1. Objetivo general del estudio	50
2.2. Objetivos específicos e hipótesis de trabajo	51
2.2.1. <i>Objetivo 1: determinar si la restricción aguda de sueño supone una merma en la calidad de la codificación</i>	51
2.2.2. <i>Objetivo 2: determinar si la restricción de sueño supone una merma en la reactivación de la memoria durante la fase de prueba tras una noche completa de sueño</i>	52
2.2.3. <i>Objetivo 3: determinar si la calidad de la codificación y la reactivación de la memoria durante el recuerdo intencionado guardan relación con los procesos de consolidación que operan durante el sueño</i>	53
2.2.4. <i>Objetivo 4: determinar si los procesos de consolidación asociados al recuerdo intencionado reiterado interaccionan con los procesos de consolidación que operan durante el sueño y si dicha interacción está moderada por la calidad de la codificación</i>	54
3. MATERIALES Y MÉTODOS	59
3.1. Participantes	59
3.2. Estímulos	60
3.3. Paradigma experimental	61
3.3.1. <i>Fase de adquisición</i>	61
3.3.2. <i>Fase de prueba</i>	65

3.4. Protocolo experimental	65
3.5. Evaluación del comportamiento	67
3.5.1. Índices de atención durante la fase de adquisición	67
3.5.2. Índices de memoria	67
3.6. Registro y análisis de las oscilaciones cerebrales	68
3.6.1. Registros EEG	68
3.6.2. Pre-procesamiento de la señal EEG	69
3.6.3. Análisis de las oscilaciones cerebrales durante el sueño	69
3.6.3.1. Análisis de la estructura del sueño	69
3.6.3.2. Identificación automática de las ondas lentas	70
3.6.3.3. Identificación semi-automática de los husos de sueño	70
3.6.3.4. Acoplamiento entre Ols y HS	72
3.7. Análisis de similitud de patrones espacio-temporales (SPET) de la actividad EEG	73
3.7.1. Similitud durante la fase de adquisición	73
3.7.2. Similitud entre la fase de adquisición y la fase de prueba	75
3.8. Análisis estadísticos	76
3.8.1. Índices comportamentales e índices derivados del análisis de la macro y microestructura del sueño	76
3.8.2. Calidad de la codificación y reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación durante la primera prueba de recuperación	78
3.8.3. Relación del acoplamiento OL-HS con la SPET en la fase de adquisición y en la fase de prueba (primera presentación)	80
3.8.4. Contribución de la calidad de la codificación, del acoplamiento OL-HS y de la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación a la memoria de reconocimiento	80
3.8.5. Efecto de la calidad de la codificación y del acoplamiento OL-HS sobre la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación durante la recuperación reiterada de la memoria	81
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	85
4.1. Efecto de la restricción de sueño sobre los indicadores conductuales obtenidos en la fase de adquisición de la memoria	85
4.2. Efecto de la restricción de sueño sobre la calidad de la codificación evaluada a través de la similitud de patrones EEG	88
4.3. Contribución de la restricción de sueño y calidad de la codificación a la memoria de reconocimiento	90
4.4. Efecto de la restricción aguda de sueño sobre la macroestructura y microestructura del sueño en la noche siguiente a la fase de adquisición	94

4.5. Contribución de la restricción de sueño y calidad de la codificación al acoplamiento OL-HS en la noche siguiente a la fase de adquisición	98
4.6. Efecto de la restricción aguda de sueño sobre la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación durante la fase de prueba	102
4.7. Relación entre el acoplamiento OL-HS y la reactivación de patrones EEG asociados a la codificación durante la fase de prueba	106
4.8. Contribución de la calidad de la codificación, del acoplamiento OL-HS y de la reactivación de patrones EEG asociados a la codificación a la memoria de reconocimiento	108
4.9. Efecto del recuerdo intencionado repetitivo sobre los índices conductuales de la memoria de reconocimiento	109
4.10. Regresión de la calidad de la codificación, el acoplamiento OL-HS y el recuerdo intencionado repetitivo sobre la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación	114
5. DISCUSIÓN GENERAL	121
6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	133
7. CONCLUSIONES	137
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141
ANEXO I. Artículo en <i>Scientific Reports</i> (2020)	169
ANEXO II. Artículo en proceso de revisión	197





## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Teoría clásica de la consolidación a nivel de sistema	19
<b>Figura 2.</b>	Consolidación de la memoria durante el sueño y el recuerdo intencionado	23
<b>Figura 3.</b>	Las oscilaciones cerebrales durante la fase N3 del sueño regulan la consolidación a nivel de sistema	36
<b>Figura 4.</b>	El downstate de las ondas lentas corticales promueve la generación de husos de sueño en el tálamo	38
<b>Figura 5.</b>	Plasticidad sináptica facilitada en las células corticales piramidales cuando los husos de sueño se acoplan con las oscilaciones lentas	40
<b>Figura 6.</b>	Ensayos correspondientes a las tareas realizadas durante las fases de adquisición y prueba	63
<b>Figura 7.</b>	Protocolo experimental	66
<b>Figura 8.</b>	Similitud en la fase de adquisición	73
<b>Figura 9.</b>	Montaje EEG	74
<b>Figura 10.</b>	SPET <sub>C4-R</sub> en la fase de prueba	75
<b>Figura 11.</b>	Efecto de la restricción de sueño sobre la SPET <sub>C3-C4</sub>	89
<b>Figura 12.</b>	Contribución de la calidad de la codificación a la formación de la memoria	91
<b>Figura 13.</b>	Efecto de la restricción de sueño sobre el acoplamiento OL-HS durante la noche siguiente a la fase de adquisición	99
<b>Figura 14.</b>	Relación entre la SPETC y el acoplamiento OL-HS durante la noche siguiente a la fase de adquisición	100
<b>Figura 15.</b>	Efecto de la restricción de sueño sobre la SPET <sub>C4-R1</sub>	103
<b>Figura 16.</b>	Contribución de la SPET <sub>C4-R1</sub> a la memoria de reconocimiento	105
<b>Figura 17.</b>	Relación entre el acoplamiento OL-HS durante la noche siguiente a la fase de adquisición y la SPET <sub>C4-R1</sub>	106
<b>Figura 18.</b>	Efecto de la restricción de sueño y del recuerdo intencionado reiterado sobre la memoria de reconocimiento	111
<b>Figura 19.</b>	Relación entre la SPET <sub>C3-C4</sub> y el acoplamiento OL-HS sobre la SPET <sub>C4-R</sub> para las diferentes repeticiones del emparejamiento durante la fase de prueba	115
<b>Figura 20.</b>	Relación entre la SPET <sub>C3-C4</sub> y el acoplamiento OL-HS sobre la SPET <sub>C4-R</sub> para las diferentes repeticiones del emparejamiento durante la fase de prueba en el grupo DSN y RAS	117



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Índices de atención sostenida durante la fase de adquisición	86
<b>Tabla 2.</b>	Porcentaje de aciertos y TR durante la ejecución de la prueba de congruencia semántica y perceptiva	87
<b>Tabla 3.</b>	Indicadores conductuales en la fase de prueba para los grupos DSN y RAS	92
<b>Tabla 4.</b>	Parámetros que definen la macroestructura del sueño en la noche siguiente a la fase de adquisición en el grupo DSN y RAS	95
<b>Tabla 5.</b>	Parámetros que definen las ondas lentas y los husos rápidos de sueño en áreas frontocentrales y centroparietales durante el sueño siguiente a la fase de adquisición en el grupo DSN y RAS	96
<b>Tabla 6.</b>	Modelos mixtos con interceptos aleatorios para evaluar el efecto de las repeticiones y el grupo en los TR	110
<b>Tabla 7.</b>	Modelos mixtos con interceptos aleatorios para evaluar el efecto de las repeticiones y el grupo en el índice de discriminabilidad $d'$	112
<b>Tabla 8.</b>	Modelos mixtos con interceptos aleatorios para evaluar el efecto de las repeticiones y el grupo en el criterio de decisión de respuesta $C$	113



***RESUMEN / SUMMARY***

---



## Resumen

El sueño favorece la codificación de las representaciones neurales de las nuevas memorias, su estabilización y mantenimiento, sobre todo cuando la codificación ha sido débil, así como las posteriores transformaciones que determinarán su durabilidad. El recuerdo intencionado durante la codificación de nuevas memorias ejerce un efecto similar al del sueño. Sin embargo, el sueño continúa siendo necesario para mantener las transformaciones desencadenadas por el recuerdo intencionado. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar si los procesos de consolidación que operan durante el sueño interaccionan con los procesos de consolidación asociados al recuerdo intencionado que tienen lugar al día siguiente para promover la transformación de las representaciones neurales, y si el resultado de dicha interacción depende de la calidad de la codificación.

La calidad de la codificación se manipuló acortando la duración del sueño en la noche previa a la fase de adquisición y se evaluó estimando el grado de consistencia de los patrones EEG asociados a la repetición del estímulo durante la adquisición de la memoria. Como índice de consolidación durante el sueño se utilizó el grado de acoplamiento temporal entre los husos de sueño y las ondas lentas (HS-OL) durante el periodo de sueño nocturno que siguió a la fase de adquisición. Para evaluar las transformaciones asociadas al recuerdo reiterado de la información durante la fase de memoria de reconocimiento, se estimó el grado de similitud entre los patrones EEG asociados a la codificación y los patrones EEG asociados a cada una de las repeticiones del estímulo durante la fase de prueba. La similitud fue específica cuando se utilizaron los mismos estímulos en la codificación y posterior recuperación, y categórica cuando los estímulos no eran los mismos pero pertenecían a la misma categoría semántica. Los cambios en estas dos formas de similitud nos permitieron determinar si el sueño y el recuerdo intencionado cooperaban para favorecer la especificidad o la generalización de las representaciones neurales en función de la calidad de la codificación.

La restricción aguda de sueño redujo la consistencia de los patrones EEG asociados a la repetición del estímulo durante la fase de adquisición. La reducción de la calidad de la codificación no se vio acompañada de una peor memoria de reconocimiento debido a que los participantes que fueron privados de sueño en la noche previa a la fase de

adquisición reactivaron durante más tiempo los patrones neurales frontoparietales asociados a la codificación. Esta reactivación se vio favorecida por un aumento del acoplamiento HS-OL en la noche previa. Cuanto mayor fue dicho acoplamiento mayor fue la magnitud de la similitud entre los patrones EEG asociados a la codificación y posterior recuperación. Los procesos de consolidación que operan durante el sueño y que en el presente estudio están indexados por el grado de acoplamiento HS-OL interaccionaron con el recuerdo reiterado que se produjo en la fase de reconocimiento al día siguiente para transformar las representaciones neurales de las memorias adquiridas el día anterior. Sin embargo, el resultado de esta interacción estuvo moderado por la calidad de la codificación. El efecto combinado del sueño y el recuerdo reiterado supuso un aumento de la generalización de las memorias más débiles en detrimento de la especificidad, y lo contrario en el caso de las memorias más fuertes.

Los resultados del presente trabajo no solo apoyan la idea de que el sueño favorece la consolidación de las memorias más débiles, sino que también sugieren que los procesos de consolidación asociados al sueño y al recuerdo intencionado interaccionan a la hora de promover un tipo de transformaciones u otras, en función de cuán buena haya sido la calidad de la codificación.



## Summary

Sleep favors the encoding of neural representations of new memories, their stabilization and maintenance, especially under weak encoding conditions, as well as the subsequent transformations that will determine their durability. Intentional recall during the encoding of new memories exerts an effect similar to that of sleep. However, sleep remains necessary to maintain the transformations triggered by intentional recall. The present work aims to assess whether the consolidation processes operating during sleep interact with the consolidation processes associated with subsequent intentional retrieval to promote the transformation of neural representations, and whether the outcome of such interaction depends on the quality of encoding.

The quality of encoding was manipulated by shortening the duration of sleep on the night before the acquisition phase and was assessed by estimating the degree of consistency of EEG patterns associated with stimulus repetition during memory acquisition. The degree of temporal coupling between sleep spindles and slow waves (SO-SP coupling) during the nocturnal sleep period following the acquisition phase was used as an index of consolidation during sleep. To assess the transformations associated with repeated retrieval of information during the recognition memory phase, the degree of similarity between the EEG patterns associated with encoding and the EEG patterns associated with each of the stimulus repetitions during the test phase was estimated. Similarity was specific when the same stimuli were used at encoding and subsequent retrieval, and it was categorical when the stimuli were not the same but belonged to the same semantic category. Changes in these two forms of similarity allowed us to determine whether sleep and intentional retrieval cooperated to favor specificity or generalization of neural representations as a function of encoding quality.

Acute sleep restriction reduced the consistency of EEG patterns associated with stimulus repetition during the acquisition phase. Reduced encoding quality was not accompanied by worse recognition memory because participants who were sleep deprived on the night before the acquisition phase reactivated frontoparietal neural patterns associated with longer-lasting encoding. This reactivation was favored by an increase in SO-SP coupling on the previous night. The greater the SO-SP coupling, the greater the magnitude of the similarity between the EEG patterns associated with encoding and subsequent retrieval.

The consolidation processes operating during sleep and indexed in the present study by the degree of SO-SP coupling interacted with the repeated retrieval that occurred in the recognition phase the following day to transform the neural representations of memories acquired the previous day. However, the outcome of this interaction was moderated by the quality of encoding. The combined effect of sleep and repeated retrieval involved an increase in generalization of weaker memories at the expense of specificity, and the opposite for stronger memories.

The results of the present work not only support the idea that sleep favors the consolidation of weaker memories, but also suggest that the consolidation processes associated with sleep and intentional retrieval interact in promoting one type of transformation or another, depending on how good the quality of encoding was.

## ***1. INTRODUCCIÓN***

---



## 1. Introducción

La memoria declarativa hace referencia a la capacidad para adquirir, retener y recuperar de una forma consciente y flexible eventos que ocurren en un determinado contexto espacio-temporal (*memoria episódica*) y/o conceptos (*memoria semántica*) que hemos ido adquiriendo como parte de nuestra experiencia (Tulving, 1972; Zola-Morgan & Squire, 1990; Eichenbaum, 2000). Esta capacidad, además de ayudarnos a planificar el futuro (Klein *et al.*, 2010; Clark, 2013) y responder de forma adaptativa a las demandas del ambiente (Redish & Mizumori, 2015), es también determinante a la hora de definir nuestra identidad personal (Klein & Nichols, 2012). De ahí que las personas con demencia que sufren una pérdida severa de la memoria declarativa, sufran también en cierta manera una pérdida de su identidad (Norberg, 2019). No es de extrañar, por tanto, que diferentes ramas de la psicología (Michaelian & Sutton, 2013) y la neurociencia (Lisman, 2015) hayan dedicado un enorme esfuerzo al estudio de la memoria, poniendo especial énfasis en descifrar los mecanismos cerebrales responsables de su adquisición, consolidación, mantenimiento y recuperación. En los últimos 30 años se han realizado importantes avances en relación con las estructuras y circuitos cerebrales que son relevantes para cada uno de estos procesos. A pesar de ello, a día de hoy, continuamos sin saber dónde residen exactamente las memorias (Abraham *et al.*, 2019).

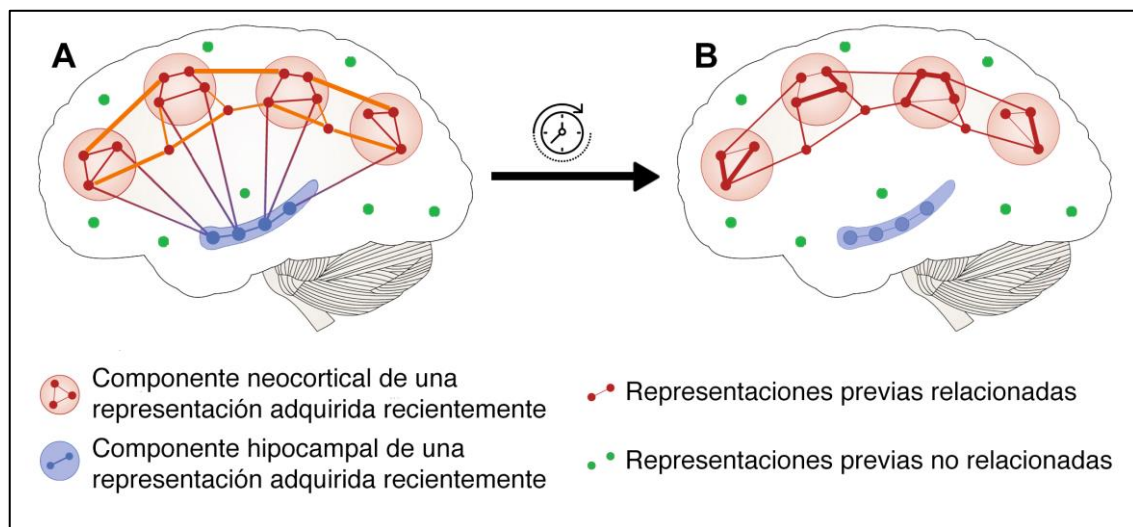
Si bien los mecanismos que operan a diferentes escalas espacio-temporales no están del todo claros, existe cierto consenso al otorgar un papel preponderante a la interacción hipocámpico-cortical en la formación de la memoria declarativa (Marr, 1971; Squire *et al.*, 2004; Wang & Morris, 2010; Squire & Wixted, 2011; Dudai, 2012; Kumaran *et al.*, 2016; Eichenbaum, 2017). Las principales divergencias surgen a la hora de explicar la transformación que sufren con el paso del tiempo las representaciones mnémicas formadas durante el proceso inicial de codificación, un proceso que conocemos como *consolidación a nivel de sistema* (Squire, 1986; Frankland & Bontempi, 2005).

### 1.1. Diferentes visiones acerca de la consolidación a nivel de sistema

La gran mayoría de las teorías sobre la consolidación a nivel de sistema apoyan la existencia de dos sistemas complementarios, uno localizado en la corteza cerebral que permite la adquisición gradual de las representaciones del conocimiento estructurado, y otro localizado en el hipocampo que permite la adquisición rápida de los aspectos específicos que caracterizan a una experiencia particular (Squire et al., 1984; Buzsáki, 1989; Alvarez & Squire, 1994; McClelland et al., 1995; Nadel & Moscovitch, 1997; Squire, 2004; Frankland & Bontempi, 2005; Moscovitch et al., 2006; Patterson et al., 2007; Wang & Morris, 2010; Winocur et al., 2010; Winocur & Moscovitch, 2011). Las discrepancias surgen a la hora de definir los cambios que sufren dichas representaciones con el paso del tiempo y la importancia del hipocampo en dicha transformación y en su posterior recuperación (Moscovitch et al., 2005; Squire & Bayley, 2007; para revisiones recientes ver Kumaran et al., 2016; Sekeres et al., 2017; Albo & Graff, 2018).

Los que abogan por la *teoría clásica de la consolidación* de la memoria defienden que el hipocampo pierde su protagonismo una vez se fortalecen las representaciones corticales, las cuales se mantendrían inalterables con el paso del tiempo (Buzsáki, 1989; Alvarez & Squire, 1994; McClelland et al., 1995; Squire, 2004; Frankland & Bontempi, 2005; Patterson et al., 2007; Wang & Morris, 2010). La Figura 1 muestra una representación esquemática de los cambios experimentados por las representaciones mnémicas recién adquiridas. En contraposición, la teoría basada en los *múltiples trazados de la memoria* defiende que la perdurabilidad de las representaciones mnémicas depende de su capacidad de transformación, o lo que es lo mismo, de que estas puedan integrarse con otras memorias relacionadas, lo que requeriría de una cooperación bidireccional entre hipocampo y corteza (Nadel & Moscovitch, 1997; Steinworth et al., 2005; Moscovitch et al., 2006; St-Laurent et al., 2009; Winocur et al., 2010; Winocur & Moscovitch, 2011). Como resultado de este proceso de integración de la información recién adquirida en un cuerpo de conocimiento más amplio, conocido como *semantización*, es normal que se pierda parte de los detalles perceptivos, temporales y espaciales que hacen que un evento episódico sea único. Entre los que defienden esta perspectiva también hay diferencias concernientes al papel del hipocampo en la recuperación de memorias remotas. Algunos creen que esta estructura

cerebral no sería necesaria para almacenar y recuperar la memoria semantizada (Steinvorth *et al.*, 2005; St-Laurent *et al.*, 2009), mientras que otros defienden su relevancia siempre y cuando las circunstancias exijan recuperar los elementos perceptivos y contextuales que distinguen a una memoria de todas las demás (Nadel & Moscovitch, 1997; Moscovitch *et al.*, 2006; Winocur *et al.*, 2010; Winocur & Moscovitch, 2011).



**Figura 1. Teoría clásica de la consolidación a nivel de sistema.** A) Distribución neocortical (redes de nodos rojos) e hipocámpico (redes de nodos azules) de una representación mnémica recién adquirida. B) Cambios en la distribución de las representaciones recién adquiridas con el paso del tiempo. Estos cambios incluyen el fortalecimiento de ciertas conexiones córtico-corticales (líneas de conexión entre nodos más gruesas) y el debilitamiento de otras (líneas de conexión entre nodos más finas) así como la desaparición de las conexiones hipocámpico-corticales. Figura modificada de Klinzing *et al.* (2019).

En un estudio conducido en roedores, Kitamura y colaboradores (2017) encontraron que durante la codificación se generan representaciones neurales estables del evento episódico en diferentes áreas del lóbulo temporal medial, incluido el hipocampo, pero también en la corteza prefrontal, gracias a las aferencias procedentes del hipocampo, corteza entorrinal y amígdala basolateral (para un resultado similar ver Bero *et al.*, 2014). Sin embargo, las representaciones prefrontales solo pudieron reactivarse mediante la presentación de una clave una vez alcanzaron la madurez, lo cual implica un incremento de la densidad de espinas dendríticas tras un periodo de varias semanas. Lo interesante

es que transcurrido este tiempo, las representaciones hipocampales solo pudieron reactivarse mediante estimulación optogenética. Aún así, la estimulación artificial del hipocampo fue capaz de producir la misma respuesta de miedo condicionado (*i.e.*, inmovilización conductual) que produjo la clave condicionada cuando se presentó inmediatamente después de la codificación. Estos hallazgos demuestran, tal como defiende la teoría basada en los múltiples trazados de la memoria (Nadel & Moscovitch, 1997; Moscovitch *et al.*, 2006; Winocur & Moscovitch, 2011), que la codificación de un evento es capaz de generar representaciones estables simultáneamente en el hipocampo y la corteza cerebral y que los parámetros que las definen cambian con el tiempo. Aunque el hecho de que la clave no fuera capaz de reactivar las representaciones hipocampales varias semanas más tarde también apoya la teoría clásica de la consolidación a nivel de sistema, su estimulación artificial produjo la respuesta condicionada, dejando abierta la posibilidad de que una vez se hayan fortalecido las representaciones corticales, el hipocampo continúe siendo un elemento esencial para la recuperación de los aspectos específicos relacionados con dicho evento.

Si tal como sugieren las evidencias experimentales en animales y humanos, el hipocampo y la corteza cerebral cooperan tanto a la hora de codificar como a la hora de consolidar una nueva memoria (para una revisión ver Simons & Spiers, 2003; Wang & Morris, 2010; Winocur *et al.*, 2010; Preston & Eichenbaum, 2013; Kumaran *et al.*, 2016; Sekeres *et al.*, 2017; Chen & Wilson, 2017; Takehara-Nishiuchi, 2020), lo lógico es que dicha cooperación siga siendo necesaria durante la recuperación una vez la memoria se ha consolidado (Genzel, 2020), muy especialmente si las circunstancias requieren el restablecimiento de los aspectos episódicos que caracterizan a dicha memoria (Jones & Wilson, 2005; Takashima *et al.*, 2009; Winocur *et al.*, 2009; Viard *et al.*, 2010; Wiltgen *et al.*, 2010; Place *et al.*, 2016; Tomparry & Davachi, 2017; Sawangjit *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2019).

Los estudios basados en el análisis de las oscilaciones cerebrales durante la codificación y posterior recuperación de la información en humanos a partir de la sincronización y desincronización neural han aportado evidencias sólidas a favor de esta hipótesis (Griffiths *et al.*, 2019). En este estudio se analizó el electro-encefalograma (EEG) intracraneal de 12 pacientes con epilepsia mientras generaban un evento



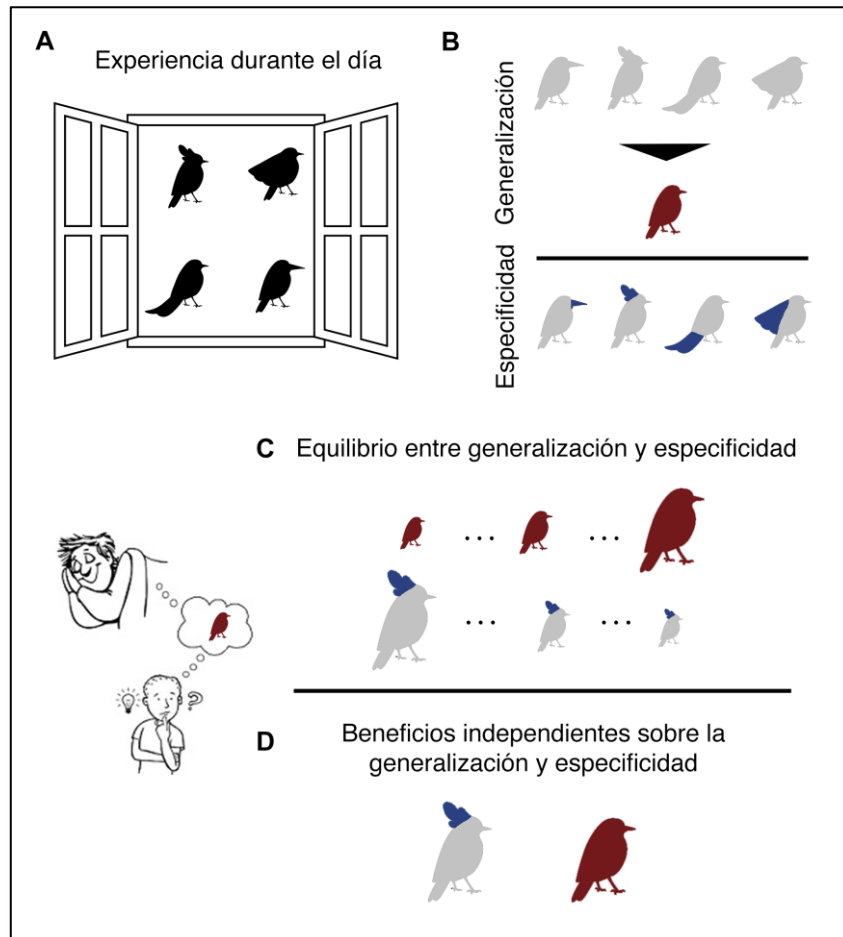
episódico a partir de asociaciones entre diferentes estímulos y mientras recuperaban dicho evento a partir de la presentación de uno de esos estímulos. Los investigadores observaron que durante el aprendizaje se producía una desincronización cortical en el rango de alfa/beta (*i.e.*, disminución de potencia entre 8-20 Hz) durante los primeros 150 ms, seguida de una sincronización hipocampal en el rango de gamma (*i.e.*, aumento de potencia entre 60-80 Hz). Estos resultados son coherentes con la idea de que durante la codificación, primero, la corteza cerebral procesa la información sensorial que es relevante para el evento. Ello permite que posteriormente el hipocampo pueda establecer las correspondientes asociaciones que dan lugar a una representación fidedigna de dicho evento. Sin embargo, durante la recuperación, la dinámica cerebral fue exactamente la opuesta. Tras presentar una parte del evento episódico se produjo una sincronización hipocampal en el rango de gamma seguida de una desincronización cortical en el rango de alfa/beta. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que el hipocampo es necesario para recuperar, en primer lugar, la esencia de la memoria y para, posteriormente, activar en otros lugares de la corteza los aspectos que caracterizan de forma particular a dicha memoria (*i.e.*, los aspectos que contribuyen a su especificidad) y/o los aspectos que puedan compartir con otras memorias relacionadas (*i.e.*, los aspectos que contribuyen a su generalización).

Resultados similares en lo que respecta a la dinámica temporal de activación del hipocampo y la corteza cerebral se han obtenido evaluando el grado de similitud entre los patrones de actividad EEG intracraneal generados durante la codificación y posterior recuperación de la información durante una tarea de reconocimiento espacial (Pacheco *et al.*, 2019) y aplicando técnicas de análisis multivariados a registros unitarios de neuronas en humanos (Staresina *et al.*, 2019). Aunque desconocemos si esta dinámica persiste con el paso del tiempo, las evidencias procedentes de estudios de neuroimagen con resonancia magnética funcional (RMf) apoyan la hipótesis de que la co-activación hipocámpico-cortical continuaría siendo necesaria para la recuperación de memorias episódicas adquiridas 3 meses antes (Harand *et al.*, 2012), e incluso para la recuperación de memorias autobiográficas adquiridas 10 años antes (Bonnici *et al.*, 2012).

Pero el debate sobre los procesos de consolidación de la memoria no solo se refiere al lugar dónde se mantienen dichas representaciones y al tipo de transformación que sufren estas representaciones con el paso del tiempo, sino también al cuándo se producen dichos procesos. Hay evidencias de que los procesos que conducen a una abstracción de la memoria y a su integración con otras memorias relacionadas tienen lugar en periodos de reposo cerebral que siguen a la codificación conocidos como *periodos de consolidación offline*. Aunque estos procesos pueden tener lugar durante los periodos de vigilia que siguen a la codificación (e.g., Tse *et al.*, 2007; Oudiette *et al.*, 2013), resultan especialmente beneficiosos cuando se producen durante el sueño que sigue a la fase inicial de adquisición (e.g., Ellenbogen *et al.*, 2007; Gais *et al.*, 2007; Durrant & Lewis, 2009; Gómez *et al.*, 2006; Takashima *et al.*, 2009; Tamminen *et al.*, 2010; Verleger *et al.*, 2013; Lutz *et al.*, 2017; Schapiro *et al.*, 2017). Adicionalmente, estos procesos de consolidación pueden verse facilitados tras recuperar de forma intencionada y reiterada la información recién adquirida, ya sea mediante recuerdo libre o presentando una parte o el conjunto de la información adquirida (e.g., Norman *et al.*, 2007; Wing *et al.*, 2013; Wimber *et al.*, 2015; Hulbert & Norman, 2015; Ferreira *et al.*, 2019; Himmer *et al.*, 2019).

Aunque se desconocen los mecanismos cerebrales que en cada uno de estos estados serían responsables de la transformación de la memoria, estos comparten algunas propiedades. De hecho, tanto las teorías cognitivas y neurobiológicas del aprendizaje mediado por la recuperación activa (Carpenter, 2009; Pyc & Rawson, 2010; Antony *et al.*, 2017), como las teorías relacionadas con los procesos de consolidación *offline* (Marr, 1971; Buzsáki, 1989; Axmacher *et al.*, 2009; McNaughton, 2010; Carr *et al.*, 2011; Born & Wilhelm, 2012; Abel *et al.*, 2013; Rasch & Born, 2013; Stickgold & Walker, 2013; Dudai *et al.*, 2015; Tambini *et al.*, 2017a; Lewis *et al.*, 2018; Klinzing *et al.*, 2019; Witkowski *et al.*, 2020) coinciden al sostener que para que una nueva memoria se mantenga en el tiempo es necesario que se produzca de manera reiterada una co-activación de las ensamblas neuronales que han codificado la nueva información así como de aquellas responsables de otras memorias relacionadas.

Se supone que dicha co-activación, además de fortalecer los elementos de solapamiento entre diferentes memorias, también reforzará los elementos específicos (*i.e.*, perceptivos y contextuales) que distinguen a una memoria de todas las demás (Ferreira *et al.*, 2019; Witkowski *et al.*, 2020), tal como se ilustra en la Figura 2.



**Figura 2. Consolidación de la memoria durante el sueño y el recuerdo intencionado.** A) Ejemplo que ilustra los pájaros que está viendo una persona a través de la ventana. B) Cambios que sufre la memoria con el paso del tiempo. Estos cambios pueden conducir a la creación de un prototipo que incluye las características comunes de los diferentes elementos que integran la experiencia vivida (generalización, representado en rojo) o pueden favorecer el registro de los aspectos característicos de cada elemento (especificidad, representado en azul). C) Algunas teorías sugieren que los procesos de consolidación que operan durante el sueño y el recuerdo intencionado facilitan la generalización en detrimento de la especificidad, o viceversa. D) Otras teorías sostienen que dichos procesos ejercen efectos independientes sobre la especificidad y generalización. Figura modificada de Witkowski *et al.* (2020).

El hecho de que puedan existir elementos comunes entre los mecanismos cerebrales responsables de la consolidación de la memoria durante el sueño y durante el proceso de recuerdo intencionado no significa que operen de la misma forma y que su contribución al proceso de transformación sea exactamente la misma (Seibt & Frank, 2019). El presente trabajo se ha diseñado específicamente para ahondar en esta cuestión. No obstante, antes de adentrarnos en los objetivos e hipótesis que han guiado la investigación realizada en el marco de esta Tesis Doctoral, revisaremos el conocimiento existente acerca de los mecanismos cerebrales que se postulan como potenciales responsables de los procesos de consolidación a nivel de sistema que operan durante los periodos *offline* y durante el recuerdo intencionado de la información recién adquirida.

## **1.2. Mecanismos cerebrales responsables de los procesos de consolidación *offline***

El término consolidación, propuesto hace más de un siglo por Müller y Pilzecker (Müller & Pilzecker, 1900; Lechner *et al.*, 1999), hace referencia al proceso mediante el cual las representaciones neurales generadas a nivel local durante la codificación de la información se transforman en representaciones estables y duraderas. Aunque el proceso de consolidación afecta a todos los niveles de análisis que se contemplan en neurociencia, desde el molecular hasta el conductual y cognitivo, las teorías de la consolidación se basan sobre todo en las evidencias derivadas del nivel celular y del nivel de sistema. Así, en los minutos u horas siguientes a la codificación se producen cambios en las sinapsis de las neuronas implicadas en la codificación inicial de la información. Estos cambios, englobados dentro de lo que conocemos como *consolidación sináptica*, permiten estabilizar las representaciones a nivel local (para una revisión ver Kandel *et al.*, 2014). Por el contrario, la consolidación a nivel de sistema se refiere a un proceso de transformación mucho más lenta que se sirve de la consolidación sináptica reiterada para estabilizar las representaciones en redes locales más amplias que se distribuyen por todo el cerebro, muy especialmente por la corteza cerebral (Dudai, 2012).

Aunque la consolidación a nivel de sistema parece iniciarse en vigilia, justo después de la codificación (e.g., van Kesteren *et al.*, 2010; Ben-Yakov & Dudai, 2011; para una revisión ver Axmacher *et al.*, 2009; Klinzing *et al.*, 2019), son muchas las evidencias que indican que el sueño inmediatamente posterior favorece esta transformación (para una revisión ver Diekelmann & Born, 2010; Lewis & Durrant, 2011; Dudai *et al.*, 2015; Klinzing *et al.*, 2019; Witkowski *et al.*, 2020). Las evidencias más sólidas se han obtenido presentando tanto en vigilia como en sueño una clave asociada con el evento codificado durante la fase de adquisición. Mediante este procedimiento, tanto estudios en humanos (Diekelmann *et al.*, 2011) como en animales (Bendor & Wilson, 2011) han encontrado que la clave únicamente contribuye a mejorar la memoria si esta se presenta durante el sueño, pero no si se presenta durante la vigilia. En este último caso, el efecto puede llegar a ser incluso contraproducente si la reactivación de la representación mnémica es seguida por un estímulo que actúa como interferencia, probablemente porque la reactivación vuelve lábil el trazado de memoria, requiriendo nuevas fases de consolidación (Diekelmann *et al.*, 2011).

El efecto de la consolidación durante el sueño, ya sea a nivel neural o a nivel comportamental, no siempre es evidente al día siguiente. A menudo, el resultado de la transformación emerge varios meses más tarde (Gais *et al.*, 2007). En este estudio de RMf, tanto el recuerdo desde un punto de vista comportamental como la actividad hemodinámica cerebral asociada al recuerdo intencionado se evaluaron en dos momentos distintos, 2 días y 6 meses después de la sesión de aprendizaje. La mitad de los participantes durmieron en las dos noches que siguieron al entrenamiento, mientras que la otra mitad fue privada de sueño en la primera noche. Los autores del estudio no encontraron diferencias en el nivel de activación de las regiones corticales implicadas en la codificación 2 días más tarde, pero sí en el nivel de activación del hipocampo, mucho menor en el grupo que fue privado de sueño en la primera noche.

Además, el hipocampo de las personas privadas de sueño mostró un menor nivel de cooperación con la corteza prefrontal medial, todo lo cual se tradujo en un peor recuerdo. Seis meses más tarde, la contribución de la corteza prefrontal medial fue mayor en relación a la del hipocampo en los participantes que no habían sido privados de sueño, mientras que en los privados de sueño se invirtió la contribución relativa de ambas regiones cerebrales. Resultados muy similares se han encontrado en ratas entrenadas

en el reconocimiento de objetos, un proceso que reside fundamentalmente en la corteza perirrinal y no en el hipocampo (Sawangjit *et al.*, 2018). El beneficio para la memoria se hizo evidente a las 2 semanas. No obstante, el resultado más impactante fue que la recuperación de esta memoria, cuya codificación es independiente del hipocampo, requirió de la activación del hipocampo cuando se evaluó justo después del sueño pero no cuando se evaluó 2 semanas más tarde.

Los resultados derivados de estos estudios ponen claramente de manifiesto como el cambio que se produce a largo plazo en la distribución espacial de las representaciones mnémicas está determinado, al menos en parte, por el sueño en la noche que sigue a la codificación. Sin embargo, la interpretación cognitiva de este cambio puede diferir. La teoría clásica de la consolidación interpreta la mayor contribución relativa de la corteza prefrontal medial sobre el hipocampo como un índice de que el sueño ha favorecido la transferencia de las representaciones generadas y mantenidas de forma temporal en el hipocampo a un almacén más duradero como el de la corteza cerebral (Alvarez & Squire, 1994; McClelland *et al.*, 1995; Squire, 2004, Frankland & Bontempi, 2005; Wang & Morris, 2010). Sin embargo, la teoría de los múltiples trazados y visiones más actuales de la consolidación a nivel de sistema interpretaría este resultado como una evidencia de que el sueño ha favorecido un cambio cuantitativo y cualitativo en las representaciones generadas inicialmente tanto en el hipocampo como en diferentes áreas de la corteza (Lewis & Durrant, 2011; Winocur & Moscovitch, 2011; Lewis *et al.*, 2018; Klinzing *et al.*, 2019; Witkowski *et al.*, 2020).

La revisión del conocimiento que tenemos a día de hoy sobre los mecanismos cerebrales que sustentan la consolidación de la memoria durante el sueño nos ayudará a entender que estas dos visiones, lejos de ser contrapuestas, explican diferentes partes del proceso al mismo tiempo que evidencian la evolución que ha sufrido nuestro conocimiento de la memoria. Como veremos a continuación, los estudios experimentales conducidos inicialmente en animales y posteriormente en humanos han revelado uno de los mecanismos esenciales que subyacen al proceso de consolidación durante el sueño: *la reactivación de las representaciones formadas durante la codificación* (Paller *et al.*, 2020). Si bien inicialmente se pensaba que esta reactivación ocurría únicamente en regiones como el hipocampo, posteriormente se vio que podía tener lugar en otras regiones neocorticales (para revisiones recientes ver Rasch & Born, 2013;

Chen & Wilson, 2017; Ólafsdóttir *et al.*, 2018; Tukker *et al.*, 2020). Esta co-activación es lo que algunos interpretan como una transferencia de la información y otros como un índice de abstracción e integración. En cualquiera de los casos, ambas interpretaciones requieren un mecanismo que permita la comunicación efectiva entre las diferentes regiones co-activadas. Las evidencias disponibles indican que tanto la reactivación como la comunicación entre las regiones co-activadas podría beneficiarse de la sincronización entre las oscilaciones cerebrales generadas a distintas escalas espaciales y espectrales durante la fase N3 del sueño, también conocido como sueño de ondas lentas (SOL) (revisado en Skelin *et al.*, 2019).

### **1.2.1. Reactivación durante el sueño de engramas y patrones de actividad neural generados durante la codificación**

Hace ya 50 años que David Marr sugirió por primera vez que las representaciones mnémicas formadas durante el día podrían ser reactivadas espontáneamente en el hipocampo mientras dormimos (Marr, 1971). En realidad, lo que se reactivaría es la manifestación fisiológica de dichas representaciones, o lo que Richard Semon vino a denominar *engramas* (Semon, 1904, 1923). El engrama, también conocido como asamblea celular o red neuronal, comprende un conjunto de neuronas que tras sufrir una serie de cambios físicos y/o químicos como resultado del aprendizaje (e.g., aumento de la fuerza sináptica, de la excitabilidad celular y/o de la conectividad con otros engramas) puede ser reactivado (*i.e.*, responder de forma sincrónica) de forma espontánea o con solo presentar una parte del evento codificado originalmente, provocando el recuerdo de dicho evento, el cual no tiene por qué ser consciente (Tonegawa *et al.*, 2015). La reactivación de los engramas durante el sueño promueve a su vez nuevos cambios sinápticos que contribuyen a su perdurabilidad, como por ejemplo un aumento en la densidad de espinas dendríticas en las neuronas implicadas (Yang *et al.*, 2014; para una revisión ver Sun *et al.*, 2020).

Aunque la tecnología que permite identificar en animales las neuronas que forman un engrama de las que no lo forman hace muy poco que está disponible (Tonegawa *et al.*, 2015), entre finales de los 80 y comienzos de los 90 ya teníamos las primeras evidencias que apoyaban el fenómeno de la reactivación sugerido por Marr (Pavrides & Winson, 1989; Wilson & McNaughton, 1994). Estos investigadores encontraron que el nivel de

actividad que mostraba un grupo de células hipocampales (*i.e.*, células de lugar) mientras las ratas exploraban el entorno determinaba el nivel de actividad de dichas células durante el periodo de sueño siguiente (Pavlides & Winson, 1989). Además, las células hipocampales que mostraban un cierto grado de co-activación durante la navegación espacial, debido al solapamiento de sus campos receptivos, tendían a mostrar un grado similar de co-activación durante el sueño posterior (Wilson & McNaughton, 1994). Esto es lo que actualmente, sobre todo en la investigación con humanos, denominamos restablecimiento o reposición del patrón de actividad neural (en inglés *reinstatement*). Este concepto difiere de la repetición o reedición (en inglés *replay*) comúnmente utilizado en investigación animal, y que hace referencia expresa a la repetición de la dinámica espacio-temporal de los patrones de actividad generados durante la codificación de la información (Skaggs & McNaughton, 1996; Qin *et al.*, 1997; Kudrimoti *et al.*, 1999; Ji & Wilson, 2007; Giri *et al.*, 2019; para resultados similares en humanos ver Eichenlaub *et al.*, 2020).

A raíz de los hallazgos mencionados anteriormente, muchos estudios posteriores conducidos tanto en animales como en humanos, han intentado asociar el fenómeno de la reactivación durante el sueño con los procesos de consolidación de la memoria. Sin embargo, es importante subrayar que la mayoría ha investigado el fenómeno de la reactivación de manera global en una o más regiones cerebrales. Solo recientemente el foco se ha desviado hacia los engramas, es decir, hacia aquellas poblaciones de neuronas que han sufrido cambios específicos durante la tarea de aprendizaje y cuya reactivación en sueño facilita la retención y posterior recuperación del evento. Por ejemplo, Ghandour y colaboradores, combinando técnicas de identificación de engramas con técnicas de imagen basadas en indicadores de calcio, encontraron que solo una parte de los engramas hipocampales se reactivaba durante el sueño posterior (Ghandour *et al.*, 2019). Lo interesante es que los sub-engramas reactivados durante el sueño también presentaban una mayor probabilidad de ser reactivados al día siguiente durante la prueba de memoria. Estos hallazgos sugieren la posibilidad de que diferentes poblaciones de neuronas dentro de un engrama representen aspectos específicos de la información inicialmente codificada. En otro estudio, se utilizó la optogenética para reactivar de forma selectiva aquellos engramas que representan el condicionamiento del miedo en la corteza retrosplenial (de Sousa *et al.*, 2019). La estimulación



optogenética de los engramas retrosplénicos, que tuvo lugar un día después de la codificación, produjo los efectos que normalmente se asocian con la recuperación de una memoria consolidada a partir de una clave, tales como un amplio reclutamiento cortical, generalización contextual y una menor dependencia del hipocampo. Sin embargo, los efectos solo fueron evidentes durante la estimulación de los engramas que habían sido previamente reactivados durante el sueño. Los hallazgos derivados de estos dos estudios suponen un fuerte sustento para la hipótesis de que la reactivación de los engramas durante el sueño constituye uno de los mecanismos que sustentan la consolidación de la memoria.

Para Endel Tulving, el acto de recuperar información del pasado sería el resultado de la relación existente entre la información asociada a la clave que actúa como activador de dicho proceso de recuperación y la información codificada inicialmente en los engramas (Tulving, 1983). De ahí que cuanto más se parezca la información asociada a la clave presentada durante la fase de recuperación a la información inicialmente presentada durante la fase de adquisición más efectiva resulte la reactivación de los engramas a partir de dicha clave y, por ende, el acceso a la información codificada en dichos engramas. Este es el principio sobre el que descansa el procedimiento experimental que ha servido para investigar el fenómeno de la reactivación de engramas durante el sueño en humanos, denominado *reactivación dirigida de la memoria* (en inglés *targeted memory reactivation*) (para una revisión reciente ver Lewis & Bendor, 2019; Schreiner & Studigl, 2020). Este procedimiento se sirve de estímulos sensoriales tales como olores y sonidos que se asocian al evento que se pretende memorizar. La presentación de estos estímulos durante el sueño no aumenta el número de reactivaciones, solo aumenta la probabilidad de que se reactiven ciertos engramas o una parte de ellos, hecho que facilita su posterior recuerdo en la prueba de memoria. Este beneficio se logra a costa de una pérdida de memoria para los eventos que no son reactivados durante el sueño mediante la presentación de la correspondiente clave (Antony *et al.*, 2012; Cousins *et al.*, 2014). Este fenómeno guarda una cierta similitud con el olvido inducido por la recuperación durante el estado de vigilia (Anderson *et al.*, 1994).

Los análisis basados en métodos multivariados son capaces de identificar los patrones de actividad neural asociados a la codificación de un evento durante la reactivación de dicho evento, ya sea en vigilia o en sueño, e independientemente de si la reactivación

se produce de manera espontánea o por la presentación de una clave. Aunque estos patrones neurales no son totalmente equiparables a los engramas, nos permiten acercarnos bastante a dicho concepto mediante el uso de técnicas no invasivas. Los análisis multivariados se sirven de diferentes métricas. Algunos utilizan clasificadores de la actividad neural que son entrenados durante la codificación y posteriormente son evaluados durante el periodo de reactivación (Kragel *et al.*, 2012). Otros utilizan medidas simples de similitud derivadas de correlaciones de Pearson entre los patrones neurales asociados a la codificación y posterior reactivación del engrama (*e.g.*, Xue *et al.*, 2010). Estas medidas pueden ser utilizadas posteriormente para análisis más complejos capaces de establecer la similitud entre representaciones asociadas a diferentes modalidades de medida de la actividad cerebral, a diferentes grupos de participantes o incluso a participantes procedentes de diferentes especies (*e.g.*, Kriegeskorte *et al.*, 2008).

El uso combinado del procedimiento basado en la reactivación dirigida de la memoria y los métodos de análisis multivariados y de similitud representacional ha proporcionado evidencias sólidas a favor de que la reactivación de la memoria durante el sueño contribuye a su consolidación también en humanos (Bendor & Wilson, 2012; Belal *et al.*, 2018; Cairney *et al.*, 2018; Shanahan *et al.*, 2018; Schreiner *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019). En uno de estos estudios, los participantes codificaron la asociación entre palabras y fotografías de escenas y objetos antes de una siesta. Tras presentar durante el sueño las palabras que debían actuar como clave para la recuperación del evento se produjo un patrón de actividad EEG similar al observado durante la codificación (Cairney *et al.*, 2018). El grado de similitud entre los patrones neurales producidos durante la fase de entrenamiento y los producidos por la clave durante el sueño correlacionaron de forma positiva con la retención de la memoria al día siguiente, apoyando la tesis de que la reactivación durante el sueño podría contribuir al proceso de consolidación.

Resultados similares se han encontrado durante la reactivación espontánea que se produce en el periodo de descanso que sigue a la adquisición de la memoria y que incluye periodos de vigilia y sueño (Deuker *et al.*, 2013). En este estudio de RMf, se utilizó el clasificador de patrones que había sido entrenado durante la adquisición para posteriormente identificar durante los periodos de descanso los patrones de activación asociados a la codificación de estímulos concretos. Los resultados mostraron que los

patrones neurales reactivados durante el periodo de descanso eran más susceptibles de ser reactivados también durante la prueba de memoria.

Es importante subrayar, no obstante, que el beneficio de la reactivación depende, por un lado, de que esta se produzca en ventanas temporales propicias para la plasticidad sináptica como aquellas proporcionadas por las oscilaciones generadas en el SOL en diferentes circuitos hipocampales, tálamo-corticales y cortico-corticales tales como los *sharp-wave ripples* (SWR) (Sadowski *et al.*, 2016), los husos de sueño (Lindemann *et al.*, 2016) y las oscilaciones lentas (Miyamoto *et al.*, 2017), respectivamente, y, por otro, de la integridad de las regiones responsables de la generación de dichas oscilaciones (Fuentemilla *et al.*, 2013; Helfrich *et al.*, 2018; Muehlroth *et al.*, 2019). Por ejemplo, existen evidencias de que la reactivación durante el sueño de los patrones de actividad EEG (30-90 Hz) asociados a la fase de adquisición únicamente contribuyen a mejorar la memoria cuando se producen en sincronía con los SWR hipocampales (100 Hz) (Zhang *et al.*, 2018). Este hallazgo en humanos tiene una gran relevancia porque en roedores, los SWR (200 Hz) se asocian temporalmente al *replay* de la actividad neural en vigilia y en sueño (Lee & Wilson, 2002; Foster & Wilson, 2006; Diba & Buszaki, 2007; Peyrache *et al.*, 2009; Carr *et al.*, 2011), y son necesarios no solo para que se produzca dicha reactivación secuencial de la actividad neural sino también para que la memoria no se pierda (Girardeau *et al.*, 2009; Ego-Stengel & Wilson, 2010; van de Ven *et al.*, 2016; para una revisión ver O'Neill *et al.*, 2010).

La presentación de claves durante el sueño también ha evidenciado que los índices de memoria en el periodo de vigilia post-sueño no solo correlacionan con la reactivación de los patrones EEG asociados a la adquisición inducida por dicha clave sino también con los husos de sueño que ocurren tras la presentación de la clave (Cairney *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019). Los husos de sueño son oscilaciones (9-15 Hz) de corta duración (0,5-3 s) características de la fase N2 del sueño que también pueden aparecer en la fase N3. Los husos se originan en el núcleo reticular talámico (Morison & Bassett, 1945) y posteriormente se transfieren a partir de las fibras tálamo-corticales hacia la corteza cerebral (Werth *et al.*, 1997; Mak-McCully *et al.*, 2018). Aquellos con frecuencias más lentas (9-13 Hz) se transfieren sobre todo hacia la corteza frontal mientras que los más rápidos (13-15 Hz) lo hacen hacia regiones centro-parietales (Anderer *et al.*, 2001; Andrillon *et al.*, 2011; Cox *et al.*, 2017). El circuito tálamo-cortical responsable de la

generación de los husos estimula la expresión temprana de genes y de los receptores glutamatérgicos (Born *et al.*, 2006), creando así las condiciones óptimas para que se produzca plasticidad sináptica en la corteza. Son muchas las evidencias que han relacionado la presencia de husos, sobre todo los más rápidos, con la reactivación y consiguiente consolidación de la memoria (revisado en Rasch & Born, 2013; Schönauer, 2018). De hecho, si la clave se presenta en el periodo refractario de los husos de sueño, la memoria no mejora (Antony *et al.*, 2018). Sobre la base de estos hallazgos y otros resultados en la misma dirección (Bergmann *et al.*, 2012; Johnson *et al.*, 2012; Cox *et al.*, 2014) se ha llegado a proponer que los engramas se reactivarían concomitantemente con la generación de los husos de sueño (Rasch & Born, 2013; Antony *et al.*, 2019), llegándose a utilizar estas oscilaciones como *proxy* de la reactivación de los engramas en humanos.

Al igual que ocurre con los SWR y/o los husos de sueño, las oscilaciones lentas (0,2-1 Hz) que caracterizan al EEG del SOL típico de la fase N3 también proporcionan una ventana temporal que podría resultar especialmente beneficiosa para promover la plasticidad sináptica en los engramas reactivados. Aunque las oscilaciones lentas se generan sobre todo en la corteza prefrontal (Steriade *et al.*, 2001), también viajan hacia regiones posteriores de la corteza, pudiendo incluso llegar a alcanzar el hipocampo (Massimini *et al.*, 2004; Nir *et al.*, 2011). Durante la generación de estas oscilaciones lentas, las cuales se mantienen gracias a la intervención del tálamo (David *et al.*, 2013), se producen despolarizaciones e hiperpolarizaciones rítmicas (~ 0,8 Hz en humanos) del potencial de membrana de las neuronas corticales (excitatorias e inhibitorias) que se corresponden con un aumento y un decremento de la excitabilidad y frecuencia de disparo de las neuronas corticales, respectivamente (Steriade *et al.*, 2001; para una revisión reciente ver Lee *et al.*, 2020; Timofeev *et al.*, 2020). En adelante denominaremos a estos periodos de silencio y actividad neuronal como *downstates* y *upstates*, respectivamente. Los periodos *upstates*, especialmente cuando ocurren en sincronía con la presencia de husos de sueño, proporcionan las condiciones idóneas para optimizar la plasticidad sináptica en los engramas formados durante la codificación (Niethard *et al.*, 2018), unas condiciones que por otra parte serían muy similares a las que se producen durante la plasticidad sináptica en vigilia (e.g., Chen *et al.*, 2015; Cichon & Gan, 2015). Cabe esperar, por tanto, que la reactivación de los engramas

promueva la consolidación si ocurre durante estos periodos de activación (Mölle *et al.*, 2011). En línea con esta tesis, los estudios basados en la reactivación dirigida de la memoria han demostrado que la presentación de la clave durante el sueño favorece el recuerdo durante la prueba de memoria si coincide con el *upstate* de las oscilaciones lentas (Rihm *et al.*, 2014; Batterink *et al.*, 2016; Shimizu *et al.*, 2018; Göldi *et al.*, 2019).

Los resultados revisados hasta el momento sugieren que tanto la reactivación de engramas como la reactivación de patrones asociados con la codificación del evento durante el sueño, ya sea de manera espontánea o por la presentación de una clave asociada al evento, se relaciona con mejores índices de memoria. Sin embargo, el momento en el que ocurre esta reactivación parece ser un factor determinante. La reactivación resulta especialmente beneficiosa cuando se produce en ventanas temporales que facilitan la plasticidad sináptica, como ocurre durante la generación de los SWR, los husos de sueño y las oscilaciones lentas. A continuación revisaremos cómo la coordinación entre los sistemas hipocampales, tálamo-corticales y córtico-corticales podría facilitar la co-activación de estos engramas así como las conexiones entre engramas distribuidos por diferentes regiones de la corteza cerebral.

### **1.2.2. Sincronización entre sistemas hipocampales, tálamo-corticales y córtico-corticales**

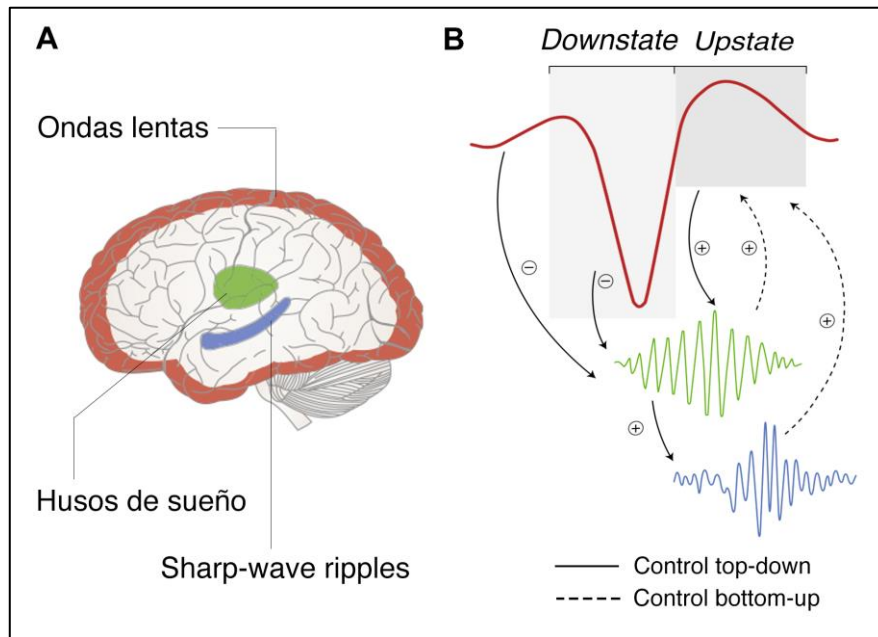
En el apartado anterior se ha subrayado la importancia de los SWR hipocampales a la hora de promover la reactivación de los engramas durante el sueño tanto en animales como en humanos y su posterior influencia durante el recuerdo intencionado en vigilia, debido probablemente a su efecto modulador sobre la plasticidad sináptica en los engramas reactivados. A favor de esta idea, Sadowski y colaboradores (2016) hallaron que la reactivación del patrón de actividad por parte de diferentes engramas hipocampales inducía potenciación a largo plazo únicamente cuando el *replay* de dicho patrón se producía durante los SWR. Las evidencias indican que estas oscilaciones rápidas podrían facilitar además la co-activación de otros engramas fuera del hipocampo (Buzsáki, 2015). De hecho, en un estudio conducido en pacientes epilépticos se encontró que los SWR registrados durante el sueño post-entrenamiento a partir de macroelectrodos colocados en el hipocampo estaban sincronizados con los registrados en la corteza rinal, aunque solo estos últimos correlacionaron con los índices

comportamentales en la prueba de memoria realizada en el periodo de vigilia siguiente (Axmacher *et al.*, 2008). De manera similar, en ratas se ha encontrado que el acoplamiento entre los SWR hipocampales y corticales—concretamente en regiones de la red por defecto (en inglés *default mode network*) característica de los periodos de descanso en vigilia—aumenta durante el sueño tras una sesión de aprendizaje en un laberinto espacial (Khodagholy *et al.*, 2017). Estos resultados unidos al hecho de que la reactivación de los engramas corticales durante el sueño suele ocurrir 40-50 ms después de los SWR hipocampales (Ji & Wilson, 2007; Lansink *et al.*, 2009; Peyrache *et al.*, 2009) apoyan la hipótesis de que los engramas reactivados en el hipocampo durante el sueño favorecen la co-activación de otros engramas en diferentes regiones de la corteza cerebral y probablemente la comunicación entre dichos engramas.

Si los SWR también ocurren en periodos de vigilia relajada, cuando el individuo está quieto, y los patrones de actividad asociados al aprendizaje pueden igualmente ser reactivados en sincronía con los SWR generados en vigilia, ¿por qué el beneficio para la memoria es mayor cuando dichas reactivaciones se producen durante el sueño? Para empezar, la información reactivada durante el sueño no tiene que competir con el procesamiento de la información presente en el ambiente. Aparte de esto, la secuencia neuronal que es reactivada durante el sueño, en comparación con la que es reactivada en vigilia relajada, suele parecerse menos a la secuencia original (Tang *et al.*, 2017). Este hecho probablemente conlleve la pérdida de ciertos aspectos contextuales al mismo tiempo que favorece la extracción de la esencia de esa memoria, es decir, la selección de los detalles contextuales y/o semánticos que son realmente importantes para recuperar esa memoria en diferentes situaciones (Battaglia *et al.*, 2012). Los cambios que se producen en la neuromodulación pueden ser también determinantes (Samanta *et al.*, 2020). De hecho, la generación de los SWR hipocampales requiere una disminución del input colinérgico sobre el hipocampo (Buzsáki *et al.*, 1983), hecho que se vería favorecido durante el sueño NREM por los bajos niveles de acetilcolina (Marrosu *et al.*, 1995). Asimismo, las neuronas noradrenérgicas del locus ceruleus no solo aumentan su actividad durante el sueño NREM tras una sesión de aprendizaje (Eschenko & Sara, 2008), sino que lo hacen en sincronía con los *upstates* de las ondas lentas (Eschenko *et al.*, 2012), cuando es más probable que se reactive la información y se generen los SWR hipocampales, una sincronía crucial para la consolidación de la

memoria (Novitskaya *et al.*, 2016). Sin embargo, esta sincronía de los SWR con otras oscilaciones tales como los husos y las oscilaciones lentas solo es posible durante el sueño, concretamente durante el SOL.

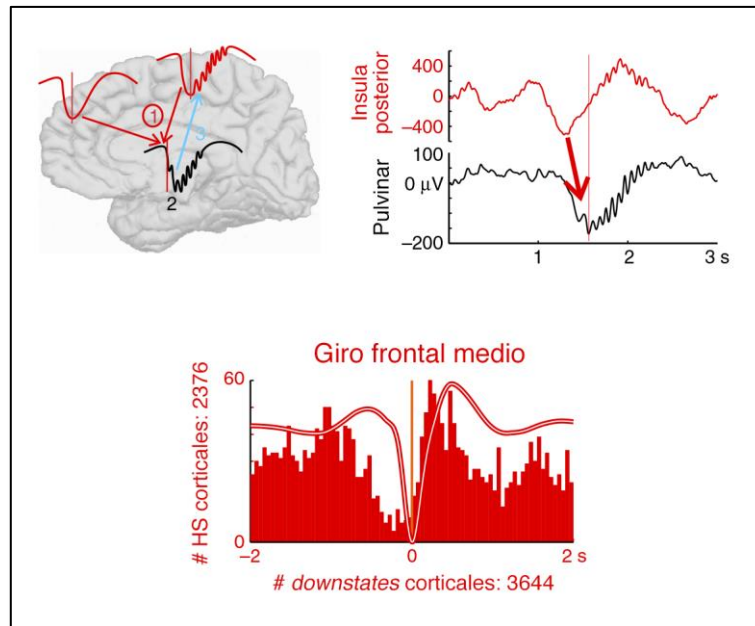
Según uno de los modelos de consolidación más influyentes en la última década (Diekelmann & Born, 2010; Mölle & Born, 2011; Born & Wilhelm, 2012; Klinzing *et al.*, 2019), las memorias serían reactivadas y redistribuidas por diferentes regiones de la corteza durante el SOL, y una vez allí, estas serían fortalecidas mediante procesos de consolidación sináptica en los diferentes periodos de sueño REM. De acuerdo con este modelo, representado esquemáticamente en la Figura 3, las oscilaciones lentas generadas durante el SOL, con diferente amplitud en diferentes regiones de la corteza cerebral dependiendo de cuán largo haya sido el periodo de vigilia previo (*e.g.*, Plante *et al.*, 2016) y de cuán elevada haya sido la demanda sensorial (*e.g.*, Kattler *et al.*, 1994; Cantero *et al.*, 2002; Cajochen *et al.*, 2008) y la implicación de dichas regiones en procesos de codificación (*e.g.*, Huber *et al.*, 2004), serían las encargadas de sincronizar la actividad neural no solo en la corteza, sino también en otras regiones relevantes para la consolidación tales como el tálamo, donde se generan los husos, o el hipocampo, donde se producen los SWR que favorecen la reactivación inicial de los engramas. Por su parte, los SWR hipocampales (Maingret *et al.*, 2017) y los husos talámicos (Möller *et al.*, 2011; Latchoumane *et al.*, 2017) también contribuirían mediante mecanismos que aún no están del todo claros a la generación de las oscilaciones lentas corticales. A favor de este modelo, son muchas las evidencias, procedentes tanto de estudios en animales como en humanos, que han relacionado el aumento del acoplamiento entre los SWR hipocampales, los husos talámicos y los *upstates* de las oscilaciones corticales durante el sueño post-entrenamiento tanto con la codificación previa como con la mejora de la memoria declarativa evaluada después del sueño (Siapas & Wilson, 1998; Sirota *et al.*, 2003; Battaglia *et al.*, 2004; Möller *et al.*, 2006, 2009; Clemmens *et al.*, 2007; Wierzynski *et al.*, 2009; Johnson *et al.*, 2010; Staresina *et al.*, 2015; Maingret *et al.*, 2016; Novitskaya *et al.*, 2016; Latchoumane *et al.*, 2017; Helfrich *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2019a, 2019b; Cox *et al.*, 2020; Ngo *et al.*, 2020).



**Figura 3. Las oscilaciones cerebrales durante la fase N3 del sueño regulan la consolidación a nivel de sistema.** A) Representación esquemática de las regiones cerebrales principalmente implicadas en la generación de las ondas lentas (neocorteza), husos de sueño (tálamo y corteza) y sharp-wave ripples (hipocampo). B) Las relaciones entre las diferentes oscilaciones cerebrales regulan la consolidación a nivel de sistema mediante influencias bottom-up (flechas discontinuas) e influencias top-down (flechas continuas). El *downstate* de la onda lenta (línea roja) proporciona una señal inhibitoria sobre los husos talámicos (línea verde) y las sharp-wave ripples hipocámpales (línea azul). Por el contrario, el *uptate* de la onda lenta facilita la generación de los husos talámicos, los cuales a su vez actúan sobre los circuitos hipocámpales para sincronizar los ripples y las reactivaciones de determinadas asambleas de neuronas en los valles de las oscilaciones que conforman el huso de sueño. Los husos de sueño, por tanto, proporcionan la señal temporal al hipocampo para que inicie la reactivación de la representación recién adquirida. Tanto los sharp-wave ripples hipocámpales como los husos tálamo-corticales pueden a su vez facilitar la generación de ondas lentas en regiones frontales. Figura modificada de Klinzing *et al.* (2019).



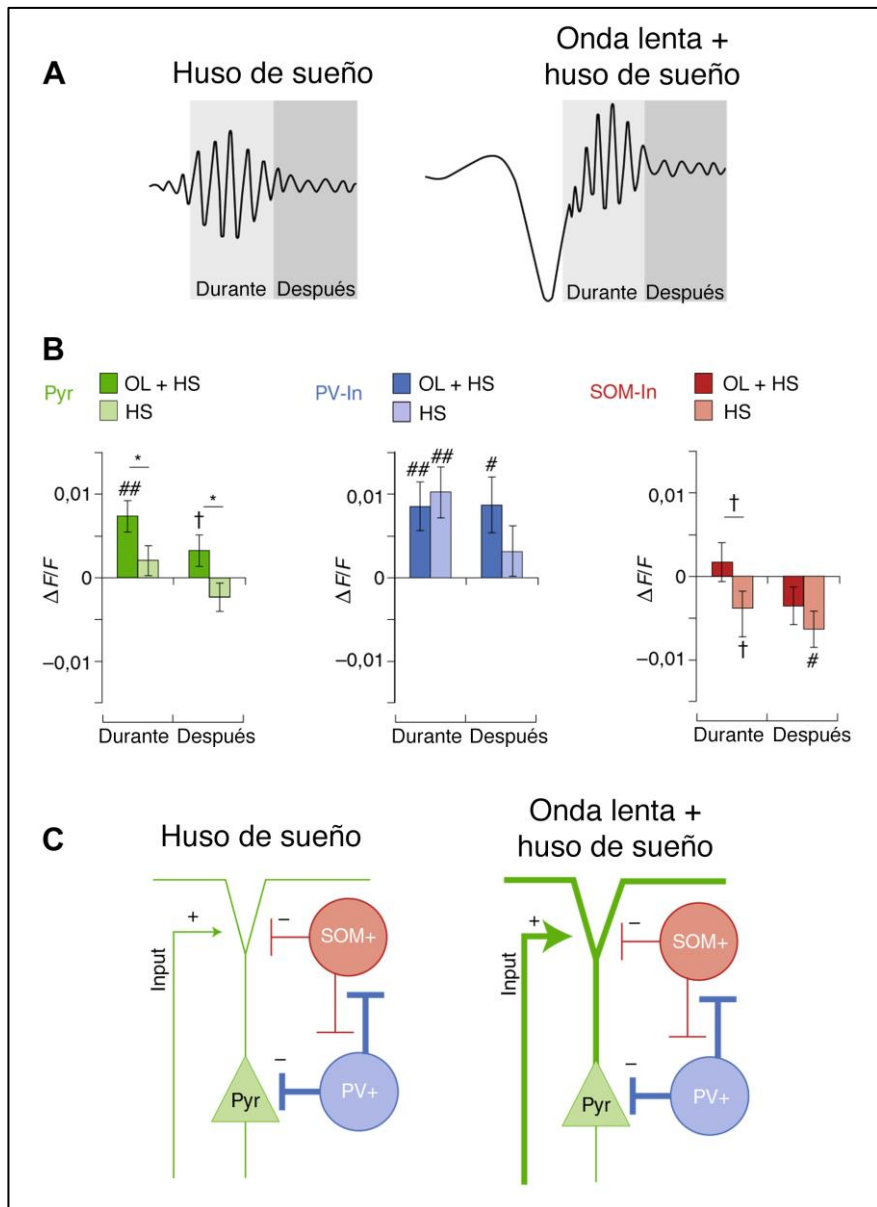
Según este modelo, los circuitos cortico-corticales responsables de la generación de las oscilaciones lentas serían los encargados de ejercer el control sobre los circuitos tálamo-corticales generadores de los husos y sobre los circuitos hipocampales generadores de los SWR. Sin embargo, el mecanismo mediante el cual estas oscilaciones ejercen dicho control continúa bajo debate. Durante mucho tiempo se ha pensado que las oscilaciones lentas y los husos se generaban de manera independiente en la corteza y el tálamo, respectivamente. Cuando se tuvo evidencia de la sincronía temporal entre los husos y los *upstates* de las ondas lentas se propuso que los sistemas cortico-talámicos responsables de este periodo de activación eran los que desencadenaban la generación de los husos en el tálamo (Steriade, 2006). Sin embargo, evidencias recientes han puesto en jaque esta asunción. El grupo de Eric Halgren, utilizando registros esteroencefalográficos bipolares del tálamo y la corteza en humanos con epilepsia fármaco-resistente, ha encontrado que los *downstates* de las ondas lentas, sobre todo cuando ocurren simultáneamente en múltiples áreas de la corteza, preceden el 90% de las veces a los *downstates* talámicos (Mak-McCully *et al.*, 2017). En la Figura 4A puede verse como la hiperpolarización cortical precede a la hiperpolarización talámica en aproximadamente 500 ms. Los autores consideran que estas hiperpolarizaciones talámicas podrían desencadenar el inicio de los husos en el tálamo, los cuales viajan hacia la corteza unos milisegundos más tarde (~15 ms). Ello explicaría el que los husos corticales aparezcan fundamentalmente en la fase de transición del *downstate* al *upstate* de las oscilaciones lentas (Figura 4B).



**Figura 4. El downstate de las ondas lentas corticales promueve la generación de husos de sueño en el tálamo.** A) Esquema general: (1) El *downstate* de la onda lenta cortical promueve la generación del *downstate* de la onda lenta talámica; (2) el *downstate* de la onda lenta talámica produce husos de sueño en el tálamo; y (3) los husos talámicos desencadenan los husos corticales. B) Ejemplo de un ensayo en el que el *downstate* de la onda lenta cortical predice el *downstate* de la onda lenta talámica y la generación subsiguiente del huso de sueño en el tálamo. C) Histograma de los husos de sueño en relación con el pico del *downstate* de la onda lenta cortical para cada canal cortical en bins de 50 ms. La onda lenta es el promedio de los potenciales de campo locales en cada canal. El comienzo de los husos corticales ocurrió durante la transición del *downstate* al *upstate* de la onda lenta.

Los resultados derivados del estudio de Mak-McCully y colaboradores (2017) indican que el periodo de silencio neuronal (*downstate*), y no el de activación neuronal (*upstate*), sería el desencadenante de la secuencia cortico-talámico-cortical que promueve el agrupamiento temporal de los husos (y los SWR anidados) en la fase despolarizante de la onda lenta. La coincidencia temporal con el *upstate* podría ser muy importante para la consolidación, proporcionando una ventana temporal óptima para la plasticidad sináptica (Niethard *et al.*, 2018). Los autores de este estudio relacionaron las oscilaciones lentas y los husos registrados durante el sueño de ratones con señales de calcio procedentes del soma de las células piramidales corticales (Pyr) y de interneuronas vecinas, concretamente de las interneuronas positivas para la parvalbúmina (PV+) y para la somatostatina (SOM+). Tal como se ilustra en la Figura 5,

el estudio reveló que solo cuando los husos se agrupaban en el *upstate* de las oscilaciones lentas aumentaba la actividad de las neuronas Pyr y de las PV+, las cuales envían una intensa señal inhibitoria al soma de las células Pyr. Por el contrario, las SOM+, que suelen inhibir las dendritas de las neuronas Pyr mostraron un bajo nivel de actividad. Esta dinámica celular nos indica que cuando se produce el acoplamiento entre los husos y las oscilaciones lentas, las neuronas piramidales corticales son más sensibles a las señales que llegan a las dendritas, como sería el caso de las señales originadas en el hipocampo como resultado de la reactivación de un engrama, mientras que la señal inhibitoria que actúa sobre el soma evitaría el exceso de actividad. Lo interesante es que estas mismas condiciones son las que se reproducen durante la plasticidad sináptica en vigilia.



**Figura 5. Plasticidad sináptica facilitada en células corticales piramidales cuando los husos de sueño se acoplan con las oscilaciones lentas.** A) Representación de un huso de sueño (HS) aislado, y de un HS acoplado a una oscilación lenta (OL) B) Resultados derivados de las imágenes de calcio de doble fotón de las células piramidales (Pyr) y de las poblaciones de interneuronas inhibitorias corticales (In) tales como las células positivas para la parvalbúmina (PV+) y para la somatostatina (SOM+) durante el sueño natural en ratones, cuando los HS aparecen de forma aislada y acoplados a la OL. La actividad del calcio ( $\Delta F/F$ ) se ha calculado durante un intervalo de 1 s que comienza cuando empieza el HS y durante el intervalo de 2 s siguiente, ambos referenciados al periodo pre-HS. C) Representación esquemática del equilibrio excitación/inhibición en los circuitos corticales durante los HS dependiendo de si estos aparecen de forma aislada (panel izquierdo) o acoplados a una OL (panel derecho). La actividad de las células Pyr fue tres veces mayor cuando los HS estaban acoplados con el *upstate* de la OL que cuando ocurrían de forma aislada. El *downstate* de la OL estuvo precedido por un aumento de

la señal de calcio de las interneuronas SOM+, mientras que los HS se acompañaron de una actividad aumentada en las interneuronas PV+, todo ello independientemente de que los HS estuvieran o no anidados en el *upstate* de la OL. Figura modificada de Klinzing *et al.*, 2019.

En resumen, el modelo de consolidación propuesto por el grupo de Jan Born asume que los husos talámicos serían los principales reguladores de la reactivación de los engramas, organizando los tiempos de generación de los SWR hipocampales, mientras que la sincronía entre los husos y los *upstates* de las oscilaciones lentas sería el mecanismo responsable de la co-activación de los engramas corticales. Sin embargo, no está claro ni dónde ni cuál sería la dirección en la que se modificarían las sinapsis promovidas por este circuito. Algunos estudios han proporcionado evidencias indirectas de que las conexiones sinápticas corticales se debilitarían durante el sueño (Tononi & Cirelli, 2003, 2014). Mientras que otros argumentan justo lo contrario, que tanto las oscilaciones lentas como el sueño en general favorecería la eficacia sináptica cortical (Timofeev & Chauvette, 2017). En un intento por reconciliar ambas posturas, se ha propuesto que el sueño podría incrementar la fuerza sináptica en circuitos locales y debilitarla en los circuitos globales (Klinzing *et al.*, 2019; Seibt & Frank, 2019), probablemente dependiendo de los cambios que se hayan producido en la excitabilidad neuronal durante la codificación (Benito & Barco, 2010) y de cómo los procesos moleculares que tienen que ver con el etiquetado sináptico y la consiguiente captura de proteínas relacionadas con la plasticidad son orquestados en el tiempo y en el espacio (Pinho *et al.*, 2020). De esta forma, el sueño favorecería la plasticidad sináptica a nivel local al mismo tiempo que mantendría la estabilidad del funcionamiento de los circuitos globales. Por el momento, solo un estudio en humanos ha proporcionado evidencias indirectas de estos dos fenómenos combinando índices comportamentales y electrofisiológicos con un protocolo de estimulación magnética transcraneal capaz de inducir cambios en el potencial evocado motor, un fenómeno que se asemeja a la plasticidad sináptica asociada a la potenciación a largo plazo (Maier *et al.*, 2019).

Más allá de cuáles sean los mecanismos celulares responsables de los cambios sinápticos en los engramas tras su reactivación durante el sueño, las evidencias muestran que el anidamiento endógeno de los husos en el *upstate* de las oscilaciones lentas durante el sueño post-entrenamiento mejora la memoria en todas las fases de la ontogenia del individuo, desde la infancia y adolescencia (Hahn *et al.*, 2020), pasando

por la adultez (Mikkuta *et al.*, 2019), hasta llegar a la vejez (Ladenbauer *et al.*, 2017; Muehlroth *et al.*, 2019). El apoyo experimental más sólido a favor de que la secuencia cortico-talámico-cortical contribuye a la consolidación de la memoria procede de la manipulación artificial de los diferentes sistemas implicados, ya sea por la vía farmacológica o mediante la aplicación de estimulación sensorial o de estimulación transcraneal. Estos estudios han mostrado que el incremento artificial de las oscilaciones lentas (Marshall *et al.*, 2004; 2006; Binder *et al.*, 2014; Ngo *et al.*, 2013; Ong *et al.*, 2016; Leminen *et al.*, 2017; Papalambros *et al.*, 2017; Ketz *et al.*, 2018; Perrault *et al.*, 2019; Zhang & Gruber, 2019), husos de sueño (Mednick *et al.*, 2013; Wamsley *et al.*, 2013; Lustenberger *et al.*, 2016; Ong *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2020) así como del acoplamiento ya sea entre ondas lentas y husos (Niknazar *et al.*, 2015; Ladenbauer *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2020) o entre ondas lentas, husos y SWR (Maingret *et al.*, 2016; Latchoumane *et al.*, 2017) mejora la memoria declarativa; mientras que su disrupción, tanto si es artificial (Garside *et al.*, 2015; Novitskaya *et al.*, 2016) como si es promovida por el envejecimiento (Helfrich *et al.*, 2018) o la presencia de algún trastorno psiquiátrico (Demanuele *et al.*, 2017; Bartsch *et al.*, 2019) o daño neurológico (Mendes *et al.*, 2019), tiene consecuencias negativas para la memoria.

A continuación, revisaremos en qué medida los mecanismos cerebrales responsables de mejorar la memoria cuando se produce una recuperación activa de la misma de forma reiterada podrían ser equiparables a los que operan durante el sueño, y si estos pueden interaccionar para favorecer la consolidación de la memoria.

### **1.3. Mecanismos cerebrales responsables de la consolidación de la memoria asociada al recuerdo intencionado durante la codificación**

En apartados anteriores hemos visto cómo la reactivación de la memoria recién adquirida a partir de la presentación de información parcial (*i.e.*, clave) durante el sueño favorece la consolidación de la memoria. Evidencias recientes sugieren que el recuerdo intencionado de dicha información durante el proceso de codificación puede favorecer su retención a largo plazo de una forma similar a como lo haría el sueño (Antony & Paller, 2018). De hecho, son numerosos los estudios que han demostrado que la recuperación reiterada e intencionada de la memoria durante la fase de adquisición mejora su retención a largo plazo mucho más de lo que lo hace la exposición pasiva y repetida a esa misma información (Rowland, 2014; Roediger & Karpicke, 2018). Para ilustrar este hecho, supongamos que dos estudiantes asisten a una clase de historia sobre las causas de la revolución francesa y que en la media hora siguiente uno aprovecha para repasar las notas tomadas durante la clase y el otro para contar a un compañero los aspectos esenciales que se han tratado en esa clase sin revisar sus notas. Si ambos tuvieran que realizar una prueba sobre los contenidos de la clase una hora más tarde, es muy probable que el alumno que ha repasado las notas lo haga mejor (Roediger & Karpicke, 2006a; Kornell *et al.*, 2011; Bai *et al.*, 2015). Sin embargo, si esa prueba tuviera lugar a la semana siguiente, el alumno que recuperó la información sin servirse de sus notas, es probable que obtuviera una mejor calificación (Roediger & Karpicke, 2006b; Carpenter *et al.*, 2008; Antony & Paller, 2018). Este fenómeno se conoce como *efecto de la prueba* (*testing effect* en inglés).

Al igual que el sueño, la reactivación reiterada de la información a través del recuerdo intencionado durante o justo después de la fase de aprendizaje contribuye a mejorar no solo la retención a largo plazo de la memoria sino también la inferencia y la transferencia del conocimiento recién adquirido (Butler, 2010; Chan, 2010; Jacoby *et al.*, 2010; Rohrer *et al.*, 2010; Kang *et al.*, 2011; Larsen *et al.*, 2013; Eglinton & Kang, 2018; Siler & Benjamin, 2020). Por ejemplo, Butler (2010), en una secuencia de 4 experimentos, solicitó a los participantes que estudiaran de manera repetida una serie de textos y que contestaran unas preguntas sobre otros textos. El conocimiento relacionado con ambos tipos de textos se evaluó una semana más tarde bien empleando las mismas preguntas utilizadas durante la fase de aprendizaje, bien formulando preguntas inferenciales que

podían aplicarse al mismo área de conocimiento o a otras áreas de conocimiento. Los resultados evidenciaron que el conocimiento derivado de los textos que se habían acompañado de preguntas durante el aprendizaje no solo se recordaba mejor, sino que además se transfería más fácilmente a otras áreas de conocimiento.

Los estudios dirigidos a evaluar los correlatos neurales de este fenómeno han observado que el nivel de activación asociado al recuerdo intencionado en determinadas regiones del cerebro durante la fase de adquisición es un mejor predictor de la memoria que el nivel de activación mostrado por esas mismas regiones durante los ensayos de codificación (Liu & Reder, 2015). Aunque no hay duda de que ambos procesos contribuyen de forma positiva a la memoria, estos parecen servirse de diferentes mecanismos. Los estudios basados en la similitud de patrones neurales derivados tanto del EEG como de la RMf sugieren que la codificación repetida contribuiría a mejorar la memoria aumentando la consistencia del patrón de activación asociado a los aspectos específicos y globales del evento episódico (Xue *et al.*, 2010; LaRocque *et al.*, 2013; Lu *et al.*, 2015; Xiao *et al.*, 2016; Sols *et al.*, 2017; Feng *et al.*, 2019; Bruett *et al.*, 2020), mientras que el recuerdo entremezclado con la codificación lo haría aumentado, por un lado, la variabilidad del patrón de activación asociado con los aspectos que caracterizan a un evento particular, lo cual sugiere la activación de representaciones cada vez más diferenciadas (Karlsson Wirebring *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2019) y, aumentando, por otro, la similitud entre memorias estrechamente relacionadas, lo que facilitaría la integración de la nueva información en esquemas generales de conocimiento (Ferreira *et al.*, 2019).

Ahora bien, ¿cómo es posible que la reactivación de la información durante el recuerdo intencionado y/o durante el sueño puedan conducir a dos fenómenos aparentemente opuestos como la diferenciación e integración? Desde una perspectiva computacional, cada vez que se presenta una clave asociada a una memoria se produce una co-activación de engramas en diferentes regiones neocorticales que contienen información semántica y episódica relacionada con la memoria recién adquirida (Norman *et al.*, 2007). Siempre y cuando la intensidad de estas co-activaciones sea fuerte, aumentará la probabilidad de que las memorias relacionadas puedan integrarse en un mismo esquema de conocimiento (Norman *et al.*, 2007). A favor de esta hipótesis se ha encontrado que el recuerdo intencionado repetitivo se acompaña de una redistribución



espacial de las representaciones mnémicas durante la fase de adquisición (Zeineh *et al.*, 2003; Brodt *et al.*, 2016) y durante la fase de prueba que tiene lugar al día siguiente (Eriksson *et al.*, 2011). Si por el contrario la intensidad de dicha co-activación es moderada, es más probable que la memoria original y las memorias relacionadas se mantengan en espacios representacionales independientes, facilitando la diferenciación (Hulbert & Norman, 2015). Wimber y colaboradores proporcionaron evidencias a favor de que el recuerdo reiterado de las memorias originales a partir de una clave era capaz de suprimir los patrones de activación corticales que son propios de las memorias relacionadas y por tanto competidoras (Wimber *et al.*, 2015). La supresión de los aspectos específicos de las memorias competidoras no haría sino favorecer la retención de una memoria diana cada vez más diferenciada. No obstante, estos datos exigen cautela a la hora de su interpretación, ya que los efectos se desvanecen cuando se excluyen de los análisis las omisiones (Potter *et al.*, 2018).

El hecho de que los beneficios comportamentales asociados al efecto de la prueba sean más evidentes varios días después de la fase de adquisición ha conducido a pensar que los engramas reactivados a través del recuerdo intencionado durante la fase de aprendizaje tendrían una cierta prioridad a la hora de beneficiarse de los procesos de consolidación *offline*. Si los engramas reactivados quedaran marcados de alguna manera, tal como propone la teoría del marcaje sináptico (Redondo & Morris, 2011), estos tendrían una cierta ventaja a la hora de ser reactivados durante el sueño siguiente. Sin embargo, las evidencias disponibles no respaldan esta hipótesis, ya que los procesos de consolidación que tienen lugar durante el sueño parecen favorecer en mayor medida las memorias que se han codificado de forma repetida frente a las memorias que se han recuperado reiteradamente durante la fase de aprendizaje (Bäuml *et al.*, 2014; Antony & Paller, 2018). Alternativamente, es posible que el recuerdo intencionado entremezclado con la codificación acelere los procesos de consolidación, haciendo que la nueva memoria sea menos dependiente de los procesos que operan durante el sueño (Antony *et al.*, 2017). Sin embargo, esta teoría tampoco se sostiene ya que evidencias recientes sugieren que el sueño continuaría siendo necesario para mantener a largo plazo los cambios inducidos por el recuerdo intencionado (Himmer *et al.*, 2019). Parece por tanto, que los procesos de consolidación que operan en estas dos ventanas de tiempo constituyen dos fenómenos independientes que, sin embargo,

podrían llegar a interactuar a fin de facilitar la transformación de la memoria y su perdurabilidad.

En resumen, los datos disponibles hasta el momento sugieren que la reactivación de la memoria, ya sea durante el recuerdo intencionado que tiene lugar durante la fase de aprendizaje o durante el sueño post-aprendizaje, contribuye a su consolidación. Aunque se desconoce hasta qué punto estos dos tipos de reactivación se sirven de mecanismos comunes o diferentes para lograr el equilibrio entre diferenciación e integración (Antony *et al.*, 2017), ambos procesos, lejos de ser excluyentes, podrían desempeñar funciones complementarias en lo que respecta a la consolidación de la memoria (Himmer *et al.*, 2019). El principal objetivo del presente trabajo de Tesis Doctoral es profundizar en la interacción que pueda existir entre ambos procesos de consolidación. Los pocos estudios realizados hasta la fecha han evaluado si las memorias reactivadas durante el recuerdo intencionado se benefician del sueño que tiene lugar en la noche siguiente (Bäuml *et al.*, 2014; Antony & Paller, 2018; Himmer *et al.*, 2019). En el presente trabajo evaluaremos si los procesos de consolidación que operan durante el sueño interactúan igualmente con los procesos de consolidación asociados al recuerdo intencionado que tiene lugar a la mañana siguiente, y si dicha interacción se ve modulada por la fuerza con la que la nueva información ha sido inicialmente codificada en la memoria.

## ***2. PLANTEAMIENTO DE OBJETIVOS E HIPÓTESIS***

---



## 2. Planteamiento de objetivos e hipótesis

Según los datos revisados hasta el momento, las transformaciones que sufre la memoria y su perdurabilidad dependen de la co-activación de engramas asociados con la memoria original y con otras memorias relacionadas en diferentes regiones neocorticales, bien a través del recuerdo intencionado durante la fase de aprendizaje bien mediante la reactivación que se produce durante el sueño post-aprendizaje. Aunque es probable que la reactivación durante el recuerdo intencionado y durante el sueño se sirva de mecanismos similares para lograr un equilibrio entre diferenciación e integración, ambas formas de reactivación están condicionadas por los procesos iniciales de codificación. Cuando la codificación es fuerte, ya sea porque el evento presenta elevada saliencia perceptiva (Pooresmaeili *et al.*, 2014), elevada saliencia emocional (Sharot *et al.*, 2004; Dolcos *et al.*, 2005; Ritchey *et al.*, 2008) o es altamente coherente con el conocimiento pre-existente (van Kesteren *et al.*, 2012; Gilboa & Marlatte, 2017), dicha memoria será más susceptible de ser reactivada y beneficiarse de los procesos de consolidación inducidos por el recuerdo intencionado que de ser reactivada de forma espontánea y beneficiarse de los procesos de consolidación que operan selectivamente durante el sueño (Bäumli *et al.*, 2014; Antony & Paller, 2018). Lo contrario es más probable cuando la codificación es débil. De hecho, cada vez son más las evidencias que apoyan la hipótesis de que el sueño favorece la consolidación de las memorias más débiles frente a las más fuertes (Kuriyama *et al.*, 2004; Drosopoulos *et al.*, 2007; Peters *et al.*, 2007; Djonlagic *et al.*, 2009; Diekelman *et al.*, 2010; Sio *et al.*, 2013; Creery *et al.*, 2015; McDevitt *et al.*, 2015; Cairney *et al.*, 2016; Dumay, 2016; van de Ven *et al.*, 2016; Schapiro *et al.*, 2017; Denis *et al.*, 2020, 2021; Walker *et al.*, 2020; Petzka *et al.*, 2021). Por ejemplo, uno de estos estudios ha establecido una relación causal entre la reactivación que se produce durante el sueño de los engramas hipocampales más débiles con la reactivación de dichos engramas durante el periodo de prueba (van de Ven *et al.*, 2016). En concreto, los autores identificaron en las ratas dos tipos de engramas hipocampales asociados a la exploración del espacio. Aunque ambos incrementaban su grado de co-activación rápidamente en los primeros minutos de exposición, algunos presentaban un alto grado de consistencia en los minutos siguientes, sugiriendo la formación de una representación fuerte, mientras que otros lo hicieron de forma progresiva, indicando la formación de representaciones más débiles.

Los autores del estudio encontraron que los dos tipos de patrones eran reactivados durante la aparición de los SWRs en el sueño siguiente. Sin embargo, solo la reactivación de los patrones más débiles correlacionó con el patrón de reactivación durante la re-exposición al mismo ambiente en el periodo de vigilia siguiente. Los investigadores también demostraron la relevancia de los SWRs para el proceso de consolidación silenciándolos optogenéticamente, de manera que la relación se debilitaba si la reactivación ocurría en ausencia de estas oscilaciones (van de Ven *et al.*, 2016). Estos datos sustentan la hipótesis de que la reactivación *per se* no desencadena los procesos de consolidación, a menos que se produzca en ventanas temporales que faciliten la plasticidad sináptica.

### 2.1. Objetivo general del estudio

El presente trabajo de Tesis Doctoral pretende evaluar si en los casos de codificación débil, el recuerdo intencionado repetitivo es aún capaz de transformar las representaciones mnemónicas (i.e., generalización/diferenciación) gracias a la interacción con los procesos de consolidación iniciados previamente durante el sueño post-aprendizaje. Para ello, se diseñó un paradigma en el que se pidió a los participantes que memorizaran, a través de una tarea de reconocimiento demorado, pares de personajes famosos del mismo género que fueron emparejados en base a su profesión (igual vs. diferente). Durante la fase de aprendizaje, los participantes vieron los emparejamientos 4 veces en bloques no consecutivos. Con el objetivo de inducir una mayor variabilidad en la fuerza de la codificación asociada a la repetición del emparejamiento, se aplicó un protocolo de restricción aguda de sueño en la noche anterior en un grupo de participantes. Esta manipulación experimental está respaldada por estudios previos que han mostrado como la privación total de sueño y la alteración selectiva del SOL ejercen un impacto negativo sobre la codificación de la memoria, afectando tanto a las representaciones hipocampales como corticales (Yoo *et al.*, 2007; Van der Werf *et al.*, 2009; Poh & Chee, 2017a, 2017b). En concreto, se retrasó 4 h la hora de acostarse, lo cual se asemeja en cierta medida a lo que ocurre con frecuencia en niños durante los fines de semana (Touchette *et al.*, 2008), en adolescentes durante los periodos lectivos (Gradisar *et al.*, 2011), en universitarios la noche antes de un examen (Zeek *et al.*, 2015) y en la población joven en general en su vida cotidiana

(Steptoe *et al.*, 2006). En el presente estudio, todos los participantes durmieron dos noches consecutivas en el laboratorio de sueño. En la primera noche, a la mitad de ellos se les permitió dormir durante un periodo de 8 h que comenzó a las 12:00h de la noche (grupo con una Duración de Sueño Normal, DSN), mientras que a la otra mitad solo se les permitió dormir desde las 4:00h hasta las 8:00h de la mañana (grupo con una Restricción Aguda de Sueño, RAS).

## 2.2. Objetivos específicos e hipótesis de trabajo

### 2.2.1. **Objetivo 1: determinar si la restricción aguda de sueño supone una merma en la calidad de la codificación**

Las evidencias indican que la codificación se ve negativamente afectada cuando los participantes son sometidos a una privación total de sueño en la noche previa (Yoo *et al.*, 2007; Poh & Chee, 2017a, 2017b). El presente trabajo parte de la hipótesis de que una restricción aguda de sueño puede ser suficiente para alterar la codificación de las nuevas asociaciones. A fin de evaluar la calidad de la codificación se registró el EEG mientras los participantes adquirían las nuevas memorias y luego se aplicaron técnicas basadas en la similitud de patrones EEG entre las diferentes presentaciones del mismo emparejamiento. Los resultados derivados de la aplicación de este tipo de técnicas a la fase de aprendizaje en estudios previos sugieren que cuanto mayor es la consistencia (similitud) del patrón neural a lo largo de las diferentes repeticiones mejor es el recuerdo posterior (Xue *et al.*, 2010; Lu *et al.*, 2015; Sols *et al.*, 2017; Feng *et al.*, 2019). Por consiguiente, el grado de similitud entre los emparejamientos que se repiten durante la fase de aprendizaje puede considerarse como un índice de la calidad con la que dichos emparejamientos se han codificado en la memoria. Cabe esperar, por tanto, que el grado de similitud entre los emparejamientos presentados de forma repetida durante la fase de adquisición sea mayor en el grupo DSN que en el grupo RAS.

**2.2.2. Objetivo 2: determinar si la restricción de sueño supone una merma en la reactivación de la memoria durante la fase de prueba tras una noche completa de sueño**

La memoria no se evaluó justo después de la fase de aprendizaje para evitar diferencias de grupo en los procesos de consolidación que ocurren en ausencia de estimulación antes de que se inicie el sueño. Sobre la base de los datos expuestos anteriormente (ver apartado 1.3.), es más probable que el recuerdo intencionado activara dichos procesos en el grupo DSN que en el grupo RAS. Es por ello, que la memoria se evaluó tras una segunda noche de sueño con duración normal (8 h).

Para evaluar la memoria se empleó una prueba de reconocimiento en la que se presentaron los mismos personajes que en la fase de aprendizaje, emparejados exactamente de la misma forma en algunos bloques y emparejados de distinta forma en otros. Ambos tipos de emparejamiento se repitieron 4 veces, lo que permitió evaluar los cambios en la ejecución de la tarea con cada repetición. También se registró el EEG durante la fase de prueba a fin de evaluar algunas de las hipótesis relacionadas con los procesos de consolidación.

Sobre la base de resultados previos de nuestro laboratorio utilizando una tarea y protocolo similares (Alberca-Reina *et al.*, 2014), no se espera encontrar diferencias notables entre los dos grupos en lo que respecta a los correlatos conductuales del reconocimiento evaluado por primera vez. Esto no significa, sin embargo, que ambos grupos utilicen las mismas estrategias cognitivas ni utilicen los mismos circuitos neuronales para acceder a la información, como ya se demostró en un estudio anterior basado en el análisis tiempo-frecuencia de las fuentes generadoras de la señal EEG (Alberca-Reina *et al.*, 2015). Dado que se espera inducir diferencias en los patrones neurales asociados a la codificación repetida de un mismo emparejamiento a través de la manipulación del tiempo total de sueño en la noche previa, y teniendo en cuenta que el reconocimiento de los emparejamientos conlleva la reactivación de una parte importante de los patrones neurales generados durante la fase de aprendizaje (Davachi & Danker, 2013), nuestra predicción es que ambos grupos diferirán en los patrones de reactivación durante la primera fase de reconocimiento (primera repetición).



Para evaluar esta hipótesis se analizó el grado de similitud entre los patrones EEG asociados a la última presentación de los emparejamientos en la fase de aprendizaje y los patrones EEG asociados a la primera presentación de dichos emparejamientos en la prueba de reconocimiento. Como solo se analizaron los ensayos reconocidos correctamente, no se esperaba que la magnitud de la similitud fuera diferente entre los grupos. Las principales diferencias deberían quedar reflejadas en la dinámica espacio-temporal de la reactivación, ya que es probable que el grupo DSN (codificación más fuerte) base su reconocimiento en la recuperación de detalles más específicos que implican sobre todo a regiones frontales y al giro hipocampal (e.g., Melo *et al.*, 1999; Budson *et al.*, 2002) y que requieren un mayor tiempo de procesamiento (Roediger & McDermott, 1995), mientras que el grupo RAS (codificación más débil) es más probable que lo haga sobre la base de aspectos más generales que se procesan en estructuras temporales mesiales (e.g., Melo *et al.*, 1999; Chiu *et al.*, 2010) y que podrían activarse de forma más automática y rápida (Roediger & McDermott, 1995). Por consiguiente, la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación tras la primera repetición del evento se espera que sea más temprana y de mayor intensidad en regiones centrales en el grupo RAS, y que sea más tardía y más frontal en el grupo DSN.

**2.2.3. Objetivo 3: determinar si la calidad de la codificación y la reactivación de la memoria durante el recuerdo intencionado guardan relación con los procesos de consolidación que operan durante el sueño**

Además de evaluar el impacto de la restricción aguda de sueño en la calidad de la codificación y en la recuperación posterior, quisimos evaluar si ambos efectos están relacionados con los procesos de consolidación que operan durante el sueño. A tal fin se registró el EEG durante el sueño que sigue a la fase de aprendizaje. En primer lugar, se evaluó si el grado de acoplamiento entre los husos rápidos de sueño y el *upstate* de las ondas lentas durante la fase N3, considerado un índice de la reactivación de la memoria durante el sueño (ver apartado 1.2.2.), se veía modificado por la calidad de la codificación y; en segundo lugar, se estudió si dicho acoplamiento contribuía a explicar la variabilidad en el reconocimiento y en el patrón de reactivación neural durante la primera presentación de los emparejamientos en la fase de prueba. Basándonos en las evidencias que sugieren que el sueño prioriza la consolidación de las memorias más débiles (Kuriyama *et al.*, 2004; Drosopoulos *et al.*, 2007; Peters *et al.*, 2007; Djonlagic

*et al.*, 2009; Diekelman *et al.*, 2010; Sio *et al.*, 2013; Creery *et al.*, 2015; McDevitt *et al.*, 2015; Cairney *et al.*, 2016; Dumay, 2016; van de Ven *et al.*, 2016; Schapiro *et al.*, 2017; Denis *et al.*, 2020, 2021; Walker *et al.*, 2020; Petzka *et al.*, 2021), se espera encontrar un mayor grado de acoplamiento entre husos y ondas lentas en el grupo RAS en comparación con el grupo DSN y que dicho acoplamiento esté relacionado no solo con la calidad de la codificación sino también con la ejecución y el patrón de reactivación durante la primera presentación de los emparejamientos en la fase de reconocimiento posterior.

**2.2.4. *Objetivo 4: determinar si los procesos de consolidación asociados al recuerdo intencionado reiterado interaccionan con los procesos de consolidación que operan durante el sueño y si dicha interacción está moderada por la calidad de la codificación***

Para evaluar el objetivo último de este trabajo de Tesis Doctoral, se analizó la similitud entre los patrones EEG asociados a los emparejamientos presentados por cuarta vez durante la fase de aprendizaje y los patrones EEG asociados a la segunda, tercera y cuarta repetición de dichos emparejamientos en la fase de reconocimiento. Dado que se espera que la transformación de las representaciones afecte tanto a la diferenciación como a la generalización, se aplicaron diferentes estrategias para computar la similitud. Para evaluar si los participantes reactivaban aspectos específicos de la memoria, lo cual sería un indicador de diferenciación, se computó la similitud entre emparejamientos idénticos (*i.e.*, similitud específica); mientras que para evaluar si la representación de la memoria reactivada se solapaba con las representaciones de otras memorias relacionadas pertenecientes a la misma categoría, lo cual sería un indicador de generalizabilidad, se computó la similitud entre los patrones EEG asociados a emparejamientos que comparten género y profesión (*i.e.*, similitud categórica).

El presente estudio parte de la hipótesis de que las memorias débiles también pueden sufrir transformaciones durante la repetición del recuerdo intencionado siempre y cuando los procesos de consolidación se hayan iniciado durante el periodo de sueño previo. Sin embargo, y dado que la restricción aguda de sueño en la noche previa a la codificación se espera que afecte de forma negativa a la reactivación de los detalles (Yoo *et al.*, 2007; Van der Werf *et al.*, 2009; Poh & Chee, 2017a, 2017b), es probable

que la interacción entre los procesos de consolidación que operan durante el sueño y durante el recuerdo intencionado al día siguiente contribuyan sobre todo a incrementar la generalizabilidad en detrimento de la especificidad. En consecuencia, se espera que cuanto mayor sea el acoplamiento entre husos y ondas lentas mayor sea el incremento de la similitud categórica asociado a la repetición de los emparejamientos durante la fase de prueba, y que dicha asociación sea más fuerte en el grupo RAS comparado con el grupo DSN. Aunque la reactivación de memorias solapadas podría interferir con la memoria del evento específico, también supone una oportunidad para identificar regularidades entre memorias similares, las cuales son fundamentales para la integración del conocimiento (Robertson, 2018).

En el caso particular de las memorias fuertes, se espera que el recuerdo reiterado contribuya en mayor medida que el sueño a la reactivación de los patrones EEG asociados tanto con la codificación de los detalles como con la codificación de las regularidades entre memorias similares. En este caso, se espera que tanto la similitud específica como la similitud categórica incrementen progresivamente con el recuerdo reiterado y que dicha asociación sea mayor en el grupo DSN que en el grupo RAS. Esta hipótesis está sustentada por evidencias que indican que el recuerdo intencionado durante la codificación favorece el fortalecimiento de las representaciones específicas (Karlsson Wirebring *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2019) y categóricas (Ferreira *et al.*, 2019).



### ***3. MATERIALES Y MÉTODOS***

---



### 3. Materiales y métodos

#### 3.1. Participantes

Veintisiete jóvenes (15 mujeres) con edades comprendidas entre 18 y 27 años (media  $\pm$  desviación típica:  $21,8 \pm 2,6$ ) participaron en el presente estudio. Todos ellos firmaron los formularios de consentimiento informado antes de iniciar el estudio. Los protocolos experimentales empleados en el transcurso de la investigación han sido aprobados por el Comité Ético de Investigación con Humanos de la Universidad Pablo de Olavide respetando los principios establecidos en la Declaración de Helsinki (2008).

Los participantes fueron incluidos en el estudio si cumplían los siguientes criterios: (i) hispanohablantes nativos y residentes en España; (ii) visión normal o corregida; (iii) diestros según el Inventario de Lateralidad de Edimburgo (Oldfield, 1971); y (iv) cronotipo intermedio determinado a partir del Cuestionario de Matutinidad-Vespertinidad de Horne y Östberg adaptado para población española (Adan & Almirall, 1991).

Los participantes fueron excluidos atendiendo a los siguientes criterios: (i) consumo de sustancias estimulantes; en concreto se descartaron aquellos que mostraron un grado moderado de dependencia de sustancias como cafeína o teína (más de tres tazas al día), alcohol (evaluado mediante el *Alcohol Use Disorders Identification Test*; punto de corte  $\geq 6$  para mujeres, ver Pérula de Torres *et al.*, 2005; y punto de corte  $\geq 10$  para hombres, ver Contel Guillamón *et al.*, 1999) o cannabis (más de una vez por semana); (ii) presencia o historial de enfermedades neurológicas (traumatismo cráneo-encefálico, ictus, crisis epilépticas), psiquiátricas (trastornos de ansiedad, depresión, episodios psicóticos, historia de consumo crónico de alcohol y/u otras adicciones) o de otra índole (renal, hepática, pulmonar y/o endocrina); (iii) presencia o historial de alteraciones del ciclo vigilia-sueño, problemas para conciliar el sueño por la noche o para permanecer despiertos durante el día, y/o presencia de alguna sintomatología asociada a la patología del sueño; (iv) puntuaciones por encima de 2 desviaciones típicas con respecto a su grupo de referencia en el test de Personalidad Zuckerman-Kuhlman (ZKPQ-III) (Gutiérrez-Zotes *et al.*, 2001); y/o (v) consumo de fármacos con efectos sobre la funciones cognitivas (e.g., inhibidores de la acetilcolinesterasa, benzodiacepinas y antidepresivos tricíclicos).

Durante la semana previa al experimento, los participantes cumplimentaron un diario de sueño a fin de evaluar si mantenían un ciclo de vigilia-sueño regular (mínimo 6,5-7 horas de sueño nocturno) así como un consumo reducido de sustancias psicoactivas (alcohol, cafeína, teína y cannabis). Durante el transcurso del experimento se prohibió expresamente dormir siestas diurnas, realizar ejercicio físico moderado o intenso y consumir sustancias psicoactivas.

### 3.2. Estímulos

Para evaluar la formación de la memoria se han utilizado un total de 96 caras de personas famosas españolas (actores, cantantes y presentadores de televisión). Todas han sido seleccionadas en internet, evitando la presencia de elementos ornamentales como gafas, sombreros o pendientes. Para reducir al mínimo la influencia de elementos ajenos al propio rostro editamos las imágenes de forma que solo el óvalo de la cara fuera visible, utilizando como puntos de referencia la barbilla y el trago del pabellón auricular. Las imágenes que lo requirieron fueron rotadas para que los ojos quedasen alineados con el eje horizontal. Todas las imágenes se homogeneizaron en base a la misma escala de grises con el mismo nivel de luminancia. Las caras se presentaron sobre un fondo negro en un monitor de 17 pulgadas situado a un metro de distancia del participante, con un ángulo visual de aproximadamente 3,3° en el plano vertical y 2,3° en el plano horizontal.

Los famosos se seleccionaron a partir de los resultados obtenidos en dos estudios pilotos. En el primero de ellos, una muestra de 426 caras de personas famosas, editadas para cumplir con los requisitos descritos anteriormente, se presentaron a 25 estudiantes universitarios. Los participantes debían indicar si conocían la profesión de las mismas y responder mediante una escala tipo Likert (graduada de 1 a 5) dos cuestiones: (i) cuán fácil había sido recordar la profesión y (ii) el nivel de familiaridad de las caras de los famosos. Únicamente se seleccionaron aquellos famosos cuyas profesiones fueron reconocidas por al menos un 75% de los participantes, siempre y cuando estos hubieran respondido a las otras dos preguntas con un 3 o más en la escala de Likert. Las 192 caras seleccionadas fueron balanceadas según su profesión y género (64 para cada profesión), de las cuales 32 correspondieron a caras de mujeres y 32 a caras de



hombres. En el segundo estudio piloto elaboramos una hoja Excel con información asociada a cada una de las caras seleccionadas en el paso anterior. Presentamos esta hoja a un grupo de 23 estudiantes universitarios que mediante una escala Likert, idéntica a la empleada en el primer estudio, debían indicar cuán familiar les resultaba el nombre del personaje y posteriormente identificar su profesión entre las tres opciones posibles (actor, cantante o presentador de televisión). Finalmente se seleccionaron 96 famosos (32 para cada profesión), cuyo nombre y profesión habían sido reconocidos por al menos un 75% de los participantes.

### **3.3. Paradigma experimental**

El paradigma diseñado para evaluar la memoria incluye una fase de adquisición y una fase de prueba realizadas en dos días consecutivos. La Figura 6 incluye una ilustración esquemática de los ensayos correspondientes a cada una de las tareas realizadas durante estas fases.

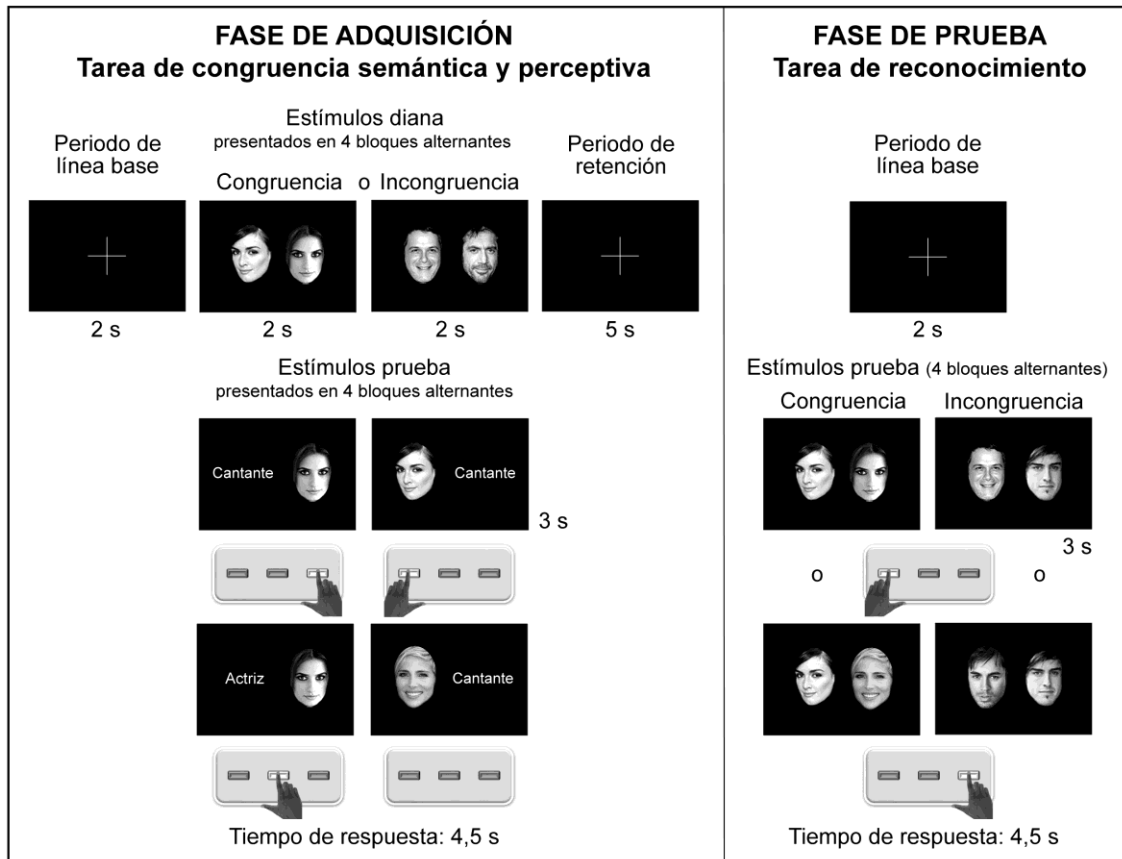
#### **3.3.1. Fase de adquisición**

El tiempo que transcurre entre la fase de adquisición y el sueño puede ser determinante para que las memorias recién adquiridas se beneficien en menor o mayor medida de los procesos de consolidación que operan durante el sueño. Las evidencias sugieren que cuanto más tiempo transcurre entre el fin de la fase de adquisición y el sueño posterior más deterioro sufre la memoria (Talamini *et al.*, 2008; Walker *et al.*, 2020). Para controlar este fenómeno, la fase de adquisición tuvo lugar a las 18:30h y finalizó a las 21:30h, por lo que transcurrieron menos de 3 h entre la adquisición de la nueva información y el comienzo del sueño.

Durante la primera hora los participantes se familiarizaron con las caras y profesiones de los famosos cuyas asociaciones tendrían que codificar posteriormente. Para ello, las 96 caras se presentaron dos veces de forma aislada en dos bloques consecutivos. En el primer bloque, las caras aparecieron de forma aleatoria en el centro de la pantalla durante un segundo, seguida de dos nombres de famosos del mismo género y profesión. Los participantes debían indicar cuál de los dos nombres correspondía al famoso,

pulsando el botón derecho (con la mano derecha) o izquierdo (con la mano izquierda) de una caja de respuesta con cinco botones dispuestos en forma de cruz (Cedrus®, modelo RB-530; Cedrus Corporation, San Pedro, California, USA). Tras emitir la respuesta se proporcionó retroalimentación dejando en pantalla el nombre correcto. En el segundo bloque, se presentaron las mismas caras de forma aleatoria durante 1,5 segundos. En este segundo bloque los participantes debían indicar si conocían o no la profesión del personaje presionando el botón derecho o izquierdo. En caso de no conocer la profesión, esta aparecía en el centro de la pantalla mientras que, en caso afirmativo, el sujeto debía indicar cuál de las tres profesiones que aparecían en pantalla se correspondía con el personaje (cantante, actor o presentador). Para ello, podían presionar uno de los tres botones dispuestos en el eje horizontal de la caja de respuestas. En esta ocasión también se proporcionó retroalimentación dejando en pantalla la opción correcta. Los participantes dispusieron de una segunda oportunidad para identificar tanto el nombre como la profesión del famoso en caso de no acertar o de no conocer dicha información.

Tras esta fase inicial, los participantes descansaron media hora. La fase de adquisición comenzó a las 20:00h. Durante esta fase los participantes realizaron una tarea de congruencia semántica y perceptiva (Figura 6, panel izquierdo). Las instrucciones se administraron de forma oral por el personal técnico. Los participantes sabían que al día siguiente realizarían una tarea de memoria basada en la información presentada en la fase de adquisición. Este conocimiento resulta de especial relevancia para la consolidación, ya que las memorias que son útiles para acciones futuras tienen mayor probabilidad de ser consolidadas durante el sueño (Rauchs *et al.*, 2011; Saletin *et al.*, 2011; Wilhelm *et al.*, 2011; Van Dongen *et al.*, 2012; Merhav *et al.*, 2015; Bennion *et al.*, 2016; Alger *et al.*, 2019).



**Figura 6. Ensayos correspondientes a las tareas realizadas durante las fases de adquisición y prueba.** *Panel izquierdo.* Curso temporal de un ensayo correspondiente a la tarea de congruencia semántica y perceptiva realizada durante la fase de adquisición. Se han incluido ejemplos de caras semánticamente congruentes e incongruentes en función de que compartieran o no la misma profesión, respectivamente. Tras el intervalo de retención de 5 s (representado por la segunda cruz) se muestran las cuatro posibles opciones de prueba que aparecen en cuatro bloques alternantes de forma pseudo-aleatoria, cada una asociada a una respuesta distinta. Cuando no coincide ni la profesión ni la cara, como en el último caso, el participante no debe emitir ninguna respuesta. *Panel derecho.* Curso temporal de un ensayo correspondiente a la tarea de reconocimiento realizada durante la fase de prueba. Se muestran ejemplos correspondientes a la condición de congruencia e incongruencia, en los que el emparejamiento pudo o no coincidir con la fase de adquisición.

Durante la tarea de congruencia semántica y perceptiva se presentaron las caras de los famosos emparejadas atendiendo a su género (mismo género) y a si compartían (congruencia semántica) o no profesión (incongruencia semántica). La manipulación de las profesiones sirvió para evaluar el efecto de la congruencia semántica sobre la memoria (Alberca-Reina et al., 2014, 2015), pero no constituye una variable importante en el presente estudio. Únicamente se utilizó a la hora de computar la similitud entre

patrones EEG asociados a categorías semánticas similares, como se explicará más abajo. Un cuarto de los famosos se emparejaron con famosos de la misma profesión y el otro cuarto con famosos de distinta profesión. Se prestó especial cuidado a que ambas condiciones fueran homogéneas en cuanto a las expresiones emocionales, popularidad de los personajes (número de sujetos que reconocieron al famoso) y familiaridad de los mismos. Las condiciones fueron contrabalanceadas para evitar que variables no controladas pudieran sesgar los resultados y su posterior interpretación.

Cada emparejamiento se presentó 4 veces en bloques alternantes. En total, se presentaron 8 bloques de 24 ensayos cada uno, precedidos por un bloque de práctica para confirmar la comprensión de las instrucciones. El intervalo entre ensayos se fijó en 2 s y el intervalo entre bloques en 2 min. Para evitar la fatiga atencional, a la mitad de la tarea se dejó un periodo de descanso más largo de 10-15 min. Cada ensayo comenzó con la presentación de una cruz de fijación en el centro de la pantalla durante 2 s. Tras su desaparición, se presentaron dos caras durante otros 2 s, las cuales fueron seguidas por una cruz de fijación en el centro de la pantalla durante 5 s. Durante este intervalo, los participantes debían retener la información relacionada con los detalles perceptivos y semánticos (profesión). Transcurrido este tiempo, se presentó durante 3 s la cara de un famoso, situada a la derecha o a la izquierda y una profesión en el lado contrario. Los participantes dispusieron desde entonces de un periodo máximo de 4,5 s para responder si la cara y la profesión se correspondían con las caras de los famosos que habían aparecido al comienzo del ensayo. La información presentada a la derecha de la pantalla se correspondía con la cara presentada a la derecha al comienzo del ensayo, y lo mismo aplica a la información presentada a la izquierda.

Para cada ensayo hubo cuatro posibles respuestas. Si la cara y la profesión se correspondían con lo mostrado al inicio del ensayo, los sujetos presionaban el botón central de la caja de respuestas con la mano derecha. En caso contrario debían abstenerse de pulsar ningún botón. Si la información coincidía únicamente con la imagen presentada a la derecha o a la izquierda, debían presionar el botón derecho o izquierdo, respectivamente.

### 3.3.2. Fase de prueba

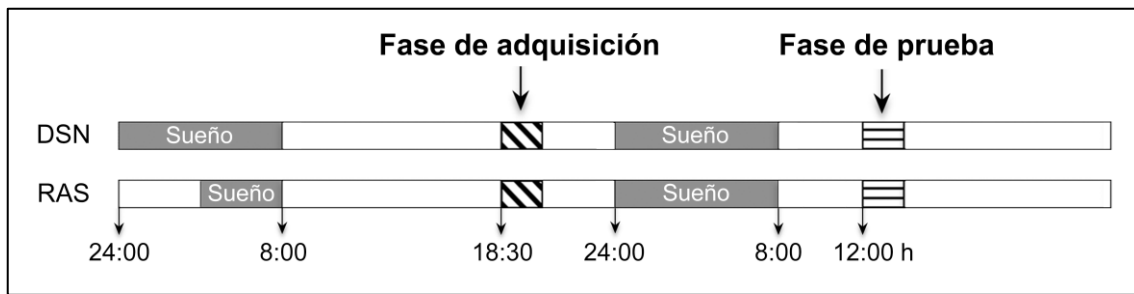
La fase de prueba tuvo lugar a las 12:00h del día siguiente. Durante esta fase, los participantes realizaron una tarea de reconocimiento en la que se presentaron los mismos famosos que en la tarde anterior, emparejados de la misma forma en cuatro bloques alternantes y de forma diferente en otros 4 bloques (Figura 6, panel derecho). La presentación de los emparejamientos fue aleatoria. En el caso de nuevos emparejamientos, se controló que la recombinación mantuviera la condición inicial de congruencia o incongruencia semántica.

Cada ensayo comenzó con una cruz de fijación en el centro de la pantalla durante 2 s. A continuación, la cruz fue sustituida por dos caras durante un periodo de 3 s. Tras la desaparición de las caras, el participante dispuso de 4,5 s para indicar de la manera más rápida posible y sin equivocarse si las caras presentadas habían sido emparejadas de la misma forma o no durante la fase de adquisición. Los botones asociados a ambas opciones de respuesta fueron contrabalanceados.

### 3.4. Protocolo experimental

La Figura 7 incluye una representación esquemática del protocolo experimental. Los participantes fueron asignados de forma aleatoria al grupo DSN y al grupo RAS. La única diferencia fue el tiempo de sueño permitido en la noche previa a la fase de adquisición. Al grupo DSN se le permitió dormir un periodo de 8 horas (24:00-8:00h) mientras que al grupo RAS solo se le permitió dormir un periodo de 4 horas (4:00-8:00h).

Los participantes de ambos grupos durmieron en el laboratorio de sueño tanto en la noche previa a la adquisición como en la noche posterior. Para evaluar el impacto de la restricción de sueño sobre los niveles de somnolencia subjetiva durante la fase de adquisición, se aplicó la Escala de Somnolencia de Stanford (*Stanford Sleepiness Scale*, Hoddes *et al.*, 1973) validada en población española (Buela-Casal & Sierra 1994) antes de iniciar y después de finalizar la tarea de congruencia semántica y perceptiva.



**Figura 7. Protocolo experimental.** Los participantes fueron asignados de forma aleatoria al grupo DSN y al grupo RAS. Cada una de las barras horizontales indica la condición experimental específica de cada grupo. El protocolo seguido por cada grupo fue idéntico a excepción de la restricción de sueño aplicada en la noche previa a la fase de adquisición. Esta tuvo lugar en la tarde del día siguiente, a fin de disminuir el periodo transcurrido entre la adquisición de la memoria y el sueño, mientras que la fase de prueba tuvo lugar tras un periodo de sueño nocturno de duración normal (8 h). Los periodos de vigilia se indican con barras blancas y los de sueño con barras grises.

Los participantes fueron citados en el laboratorio de sueño a las 18:00 h. En las tres primeras horas, dos técnicos realizaron el montaje y la puesta de electrodos. Después de la cena, los participantes de ambos grupos rellenaron algunos cuestionarios. A las 12:00 h de la noche el grupo control se fue directamente a dormir, mientras que los participantes asignados al grupo experimental realizaron tareas no estresantes como leer o ver películas durante el periodo de restricción de sueño, siempre acompañados de un técnico de laboratorio para evitar posibles siestas. Los participantes permanecieron en el laboratorio el día siguiente rellenando diferentes cuestionarios y realizando diferentes tareas no estresantes. Hasta el momento en que se inició la fase de adquisición y mientras no rellenaban cuestionarios pudieron estar acompañados por un familiar o amigo así como por un técnico que vigilaba el que no se quedaran dormidos, sobre todo en el caso de los participantes que habían sido privados de sueño en la noche previa. A todos ellos se les permitió dar pequeños paseos por el campus. La actividad electroencefalográfica (EEG) se registró durante las dos noches de sueño y durante las tareas administradas en la fase de adquisición y prueba. En el presente estudio únicamente se presentarán los resultados derivados del análisis del EEG durante la segunda noche de sueño y durante las tareas de congruencia semántica y perceptiva y la tarea de reconocimiento.

### 3.5. Evaluación del comportamiento

#### 3.5.1. *Índices de atención durante la fase de adquisición*

La restricción aguda de sueño ha demostrado ser perjudicial para diferentes componentes de los procesos atencionales y otros procesos cognitivos (Cunningham *et al.*, 2018). Una disminución en la alerta y la atención podrían, a su vez, tener consecuencias negativas sobre la adquisición de la nueva información (Muzzio *et al.*, 2009). Para controlar estas variables se cuantificaron los lapsos de atención durante la tarea de adquisición. Se catalogaron como lapsos de atención aquellas respuestas con una latencia menor de 300 ms o mayor de 2,5 s y aquellos casos en los que se produjeron dos o más omisiones (no omitir ninguna respuesta) en ensayos consecutivos. Además se computó el coeficiente de variación intraindividual (CVi) para los tiempos de respuesta a partir de la razón entre la desviación típica y la media de cada participante.

#### 3.5.2. *Índices de memoria*

Para evaluar los efectos de la restricción aguda de sueño sobre la memoria de reconocimiento evaluada por primera vez en la fase de prueba se computaron los siguientes índices: porcentaje de aciertos (responder afirmativamente cuando el emparejamiento coincide con el de la fase de adquisición), falsas alarmas (responder afirmativamente cuando el emparejamiento es nuevo), rechazos correctos (responder que no cuando el emparejamiento es nuevo) y fallos (responder que no cuando el emparejamiento coincide con el de la fase de adquisición), así como la latencia de las respuestas ante los aciertos y los rechazos correctos. Adicionalmente se computó el índice de sensibilidad o discriminabilidad ( $d'$ ) y el criterio de decisión de respuesta ( $C$ ) basado en la teoría de detección de señales (Snodgrass & Corwin, 1988). El parámetro  $d'$  se computó calculando la diferencia entre la media de la distribución de aciertos y la media de la distribución de falsas alarmas, expresadas en puntuaciones típicas, mientras que  $C$  se obtuvo mediante el cociente entre la ordenada del valor típico correspondiente a la proporción de aciertos y la ordenada del valor típico correspondiente a la proporción de falsas alarmas.

Cuando el objetivo fue evaluar el impacto de la restricción aguda de sueño sobre el reconocimiento con cada repetición, únicamente se tuvo en cuenta el índice de discriminabilidad  $d'$ , el criterio de decisión de respuesta, y las latencias de las respuestas correctas (aciertos), atendiendo a las hipótesis de trabajo planteadas en el apartado 2.2.4.

### **3.6. Registro y análisis de las oscilaciones cerebrales**

#### **3.6.1. Registros EEG**

Los registros EEG se iniciaron durante la primera noche de sueño, continuaron durante la fase de adquisición, la segunda noche de sueño y durante la fase de prueba. La señal EEG se ha registrado a partir de 59 electrodos (Fp1, Fp2, AF7, AF3, AFz, AF4, AF8, F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8, T7, C5, C3, C1, Cz, C2, C4, C6, T8, TP7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz, P2, P4, P6, P8, PO7, PO3, POz, PO4, PO8, O1 y O2) colocados sobre el cuero cabelludo tras haber realizado las correspondientes marcas siguiendo el Sistema Internacional 10-10 (Jasper, 1958). Adicionalmente se registró la señal electrooculográfica (EOG) horizontal y vertical a partir de 4 sensores, y la señal electromiográfica (EMG) a partir de 2 electrodos colocados sobre los músculos submentonianos. Todos los electrodos se han referenciado al promedio de la actividad registrada en ambos mastoides (A1 y A2).

Se utilizaron electrodos de disco de 10 mm de diámetro chapados en oro y con una longitud de cable de 152 cm (Grass, Inc., referencia FS-E5GH-60). Antes de colocar el electrodo sobre la superficie del cuero cabelludo, se frotó la zona de interés con un bastoncillo empapado en crema abrasiva para eliminar las células muertas y la grasa de la piel. Posteriormente, se rellenó la copa de cada electrodo con una pasta electrolítica conductora (Ten20™, Weaver) para facilitar la conductancia eléctrica entre la piel y el electrodo. Los electrodos de EEG se fijaron al cuero cabelludo con colodión (solución al 4%, Panreac, referencia 141278.0314), mientras que los electrodos de EOG y EMG se adhirieron a la piel con cinta quirúrgica extra-adhesiva (Fixomull®, BSN medical GmbH). Para acelerar el proceso de fijación y secado del colodión se aplicó aire



comprimido a cada electrodo colocado sobre el cuero cabelludo. Los valores de impedancia de todos los electrodos se mantuvieron siempre por debajo de 5 k $\Omega$ . Las señales electrofisiológicas fueron amplificadas (BrainAmp MR, Brain Vision®), filtradas (filtro de paso de banda 0,1-100 Hz), digitalizadas (250 Hz, resolución 16-bits) y almacenadas para su análisis posterior.

### **3.6.2. Pre-procesamiento de la señal EEG**

Para eliminar los artefactos de origen extracerebral se ha aplicado el Análisis de Componentes Independientes (ICA). En concreto se ha utilizado el algoritmo infomax (Bell & Sejnowski 1995) implementado en el software Brain Vision Analyzer v.1.05 (Brain ProductsV® GmbH). Los artefactos musculares y oculares se han identificado atendiendo a su distribución topográfica, curso temporal y espectro de potencia. Tras sustraer los artefactos de la señal original, se ha revisado manualmente la señal resultante con el fin de descartar aquellos segmentos de EEG que aún contuvieran señal artefactual. A continuación, y a fin de eliminar los efectos de la referencia original, la señal resultante se ha transformado a una referencia promedio común (Schiff, 2005). Finalmente, en el caso de las señales asociadas a un evento presentado durante la fase de adquisición y la fase de prueba se ha procedido a hacer la correspondiente corrección por la línea base establecida entre -300 y -100 ms.

### **3.6.3. Análisis de las oscilaciones cerebrales durante el sueño**

#### **3.6.3.1. Análisis de la estructura del sueño**

A pesar de los recientes avances en la detección automática de las fases del sueño (para una revisión ver Zhao *et al.*, 2019), la clasificación se ha realizado de manera manual de acuerdo con las directrices de la Academia Americana de Medicina del Sueño (Iber *et al.*, 2007). Los parámetros derivados de esta clasificación incluyen el tiempo total de sueño (TTS), la latencia de inicio del sueño (LIS), la latencia al sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) y la duración y el porcentaje de cada una de las fases (N1, N2, N3, MOR) en base al TTS. El parámetro LIS hace referencia al tiempo transcurrido desde el apagado de las luces hasta la primera época de la fase N1, y la latencia MOR al tiempo comprendido entre LIS y la primera época de sueño MOR.

Adicionalmente se computó la eficiencia del sueño como el porcentaje de tiempo de sueño en función del tiempo que se permaneció en la cama.

#### 3.6.3.2. Identificación automática de las ondas lentas

Las ondas lentas (OLs) se han identificado automáticamente en la fase N3 aplicando el algoritmo propuesto por Mölle y colaboradores (Möller *et al.*, 2002). La identificación se ha limitado a los electrodos F3, F1, Fz, F2, F4, FC1, FC2 y Cz. Primeramente, se ha filtrado la señal con un filtro de paso bajo de 3,5 Hz y luego se han identificado los instantes de tiempo donde la señal cruzó el cero. La señal de OLs vino definida por los instantes de tiempo correspondientes al valor mínimo (pico negativo) y máximo (pico positivo) identificados entre los dos momentos en los que la señal cruzó el cero. Para que la señal fuera identificada como una OL el intervalo debía estar comprendido entre 0,9 y 2 s, la amplitud del pico negativo debía estar por debajo de los  $-75 \mu\text{V}$  y la diferencia entre el pico positivo y el negativo debía ser  $\geq 140 \mu\text{V}$ . A continuación, se han promediado todas las OLs en una ventana de  $3 \text{ s} \pm 1,5 \text{ s}$  alrededor del pico negativo. Los índices derivados de esta identificación han incluido el número, densidad (número por minuto), duración media y amplitud media de pico a pico de las OLs, así como la duración de los estados descendentes (*downstate*) y ascendentes (*upstate*) en cada electrodo analizado. Finalmente, los índices obtenidos a partir de cada electrodo se promediaron para cada participante.

#### 3.6.3.3. Identificación semi-automática de los husos de sueño

Aunque los husos de sueño (HS) son más frecuentes en la fase N2 (Steriade *et al.*, 1993; Andrillon *et al.*, 2011), estos se han identificado únicamente en la fase N3 debido a que nuestro interés fundamental es evaluar el acoplamiento temporal entre los HS y las OLs típicas de dicha fase. Como la ejecución de los algoritmos disponibles para la identificación automática de los HS es bastante pobre cuando se compara con la ejecución manual llevada a cabo por personal especializado (Warby *et al.*, 2014), se ha decidido adoptar una aproximación semi-automática. Primeramente, un técnico especializado ha realizado una inspección visual atendiendo a un conjunto reducido de electrodos en los que ha procedido a la identificación manual de los HS y, en un segundo paso, se ha procedido a aplicar un algoritmo de identificación automática a un conjunto

más amplio de electrodos, pero únicamente en las ventanas temporales donde previamente se había identificado visualmente un HS.

Los HS pueden mostrar diferentes distribuciones topográficas según sean lentos (9-12 Hz) o rápidos (13-16 Hz) (DeGennaro & Ferrara, 2003). En el presente estudio nos hemos centrado en estos últimos por su relación con los procesos de consolidación (Fogel & Smith, 2011; Rasch & Born, 2013) y por las estrechas relaciones de fase que muestran estas oscilaciones con la transición del *downstate* al *upstate* de las OLs (Mölle *et al.*, 2011; Staresina *et al.*, 2015; Coppieters 't Wallant *et al.*, 2016). Aunque los HS rápidos suelen presentar una distribución centroparietal en contraposición a la distribución más frontocentral de los HS lentos (Andrillon *et al.*, 2011; Cox *et al.*, 2017), resultados recientes sugieren que las OLs pueden modular la generación de los HS rápidos en cualquier localización (Cox *et al.*, 2018) y que no solo los husos centroparietales sino también los frontocentrales pueden ser determinantes para los procesos de consolidación de la memoria (Mander *et al.*, 2017; Cairney *et al.*, 2018). Por todo ello, la identificación de HS se ha realizado tanto en electrodos frontocentrales (F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8) como centroparietales (P7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz, P2, P4, P6, P8). En adelante, a los primeros los denominaremos HS<sub>FC</sub> y a los segundos HS<sub>CP</sub>.

Tomando como referencia estudios anteriores en los que se comparaba la detección automatizada de los HS con la identificación y marcaje manual realizada por expertos (Ray *et al.*, 2015), se ha procedido a colocar marcadores de inicio y final acotando el evento EEG que visualmente cumplía los requisitos para ser un HS: i) duración entre 0,5 y 3 s; ii) amplitud mínima de 15  $\mu$ V; iii) morfología fusiforme; e iv) intervalo mínimo entre husos de 1 s (Urakami *et al.*, 2012). Tras la identificación manual, se ha aplicado un análisis de identificación automática (Mölle *et al.*, 2011). Para reducir el número de falsos positivos, la identificación automática se ha restringido a las ventanas de tiempo establecidas por la identificación visual. Antes de aplicar el algoritmo automático, la señal del EEG se ha filtrado con un FIR entre 13 y 16 Hz. A continuación, se ha computado el valor cuadrático medio de la señal filtrada en cada punto de la muestra utilizando una ventana móvil de 0,2 s. La señal resultante se ha suavizado con una media móvil de 0,2 s. El umbral para la detección de HS se ha fijado en 1,5 desviaciones

típica con respecto a la señal filtrada dentro del intervalo de tiempo establecido por los marcadores manuales, definido por la media a través de los diferentes electrodos. El evento ha sido identificado como un HS siempre y cuando el valor cuadrático medio permaneciera por encima del umbral establecido durante 0,5-3 s. El comienzo y el final del HS se ha definido en los puntos de corte con dicho umbral. Los índices computados incluyen la densidad, amplitud, duración, intensidad (duración/amplitud) y frecuencia dominante.

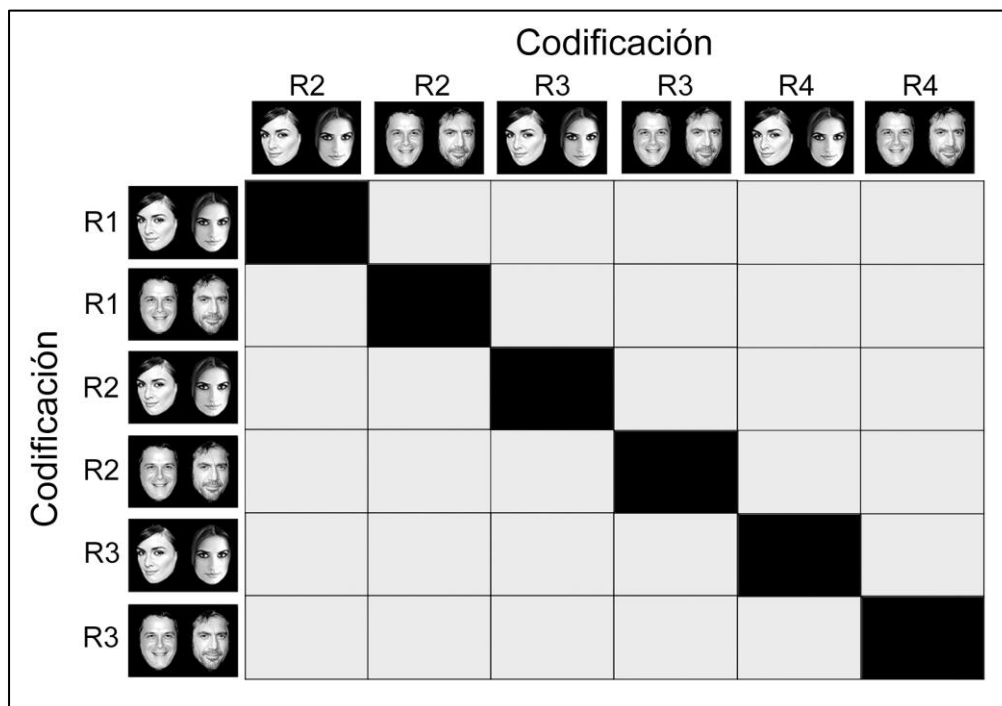
#### 3.6.3.4. Acoplamiento entre OLs y HS

Para calcular el índice de acoplamiento OL-HS aplicamos el mismo procedimiento empleado por Mölle y colaboradores (Möller *et al.*, 2011). Para ello computamos un histograma de correlación entre los dos fenómenos de interés. En primer lugar, cuantificamos la ocurrencia de los eventos en una ventana de tiempo concreta, en este caso la ventana era el intervalo de  $\pm 3$  s con respecto al pico mínimo de la OL. Este intervalo de tiempo a su vez se divide en subintervalos (bines) de tiempo de 48 ms. Calculamos el número de HS presentes en cada bin de tiempo y lo dividimos por el número de OLs para posteriormente dividirlo entre el intervalo de tiempo correspondiente al bin. De esta manera obtenemos la tasa de eventos por segundo (Hz) para cada bin de tiempo. Finalmente aplicamos una corrección por la línea base después de centrar la media en cada uno de los sensores utilizados.

### 3.7. Análisis de similitud de patrones espacio-temporales (SPET) de la actividad EEG

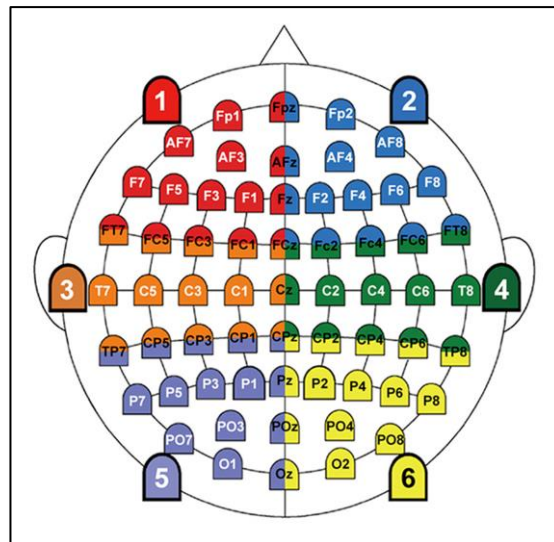
#### 3.7.1. Similitud durante la fase de adquisición

La calidad de la codificación se ha estimado a partir del grado de similitud entre los patrones de actividad EEG asociados a la repetición del mismo emparejamiento durante la fase de adquisición (i.e., similitud específica). Se parte de la asunción de que cuanto más grande sea la similitud específica en el transcurso de la fase de adquisición más fuerte será la representación de dicho emparejamiento y más fácil será reactivar dicha representación durante la fase de reconocimiento. En particular, la similitud se ha computado de manera independiente para las señales EEG asociadas a la 1ª y 2ª repetición, a la 2ª y 3ª repetición y a la 3ª y 4ª repetición (diagonal de la Figura 8). Este procedimiento se ha hecho tanto para los emparejamientos recordados durante la fase de reconocimiento (1ª presentación) como para los olvidados.



**Figura 8. Similitud en la fase de adquisición.** La diagonal contiene las similitudes computadas durante la fase de adquisición en todos los participantes.

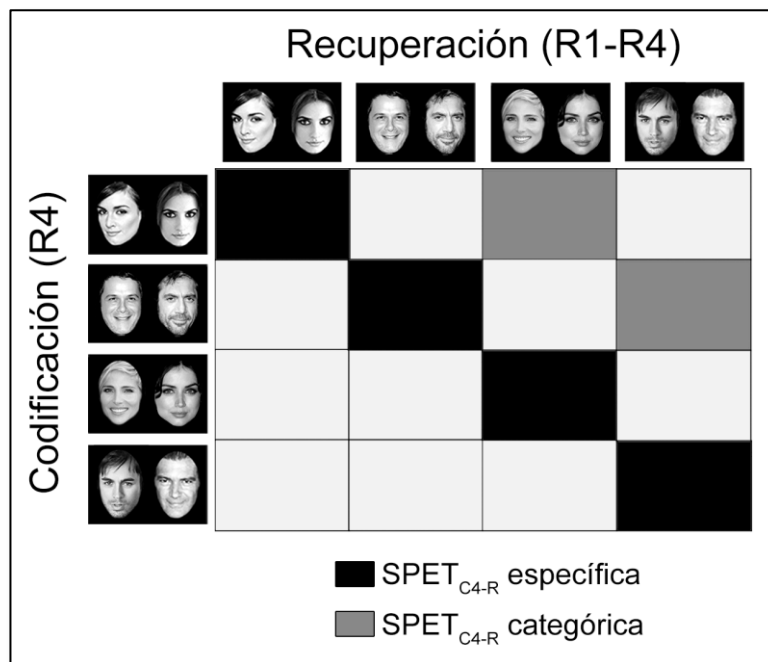
Para determinar la magnitud de la similitud entre los patrones de actividad EEG hemos adoptado el enfoque basado en la Similitud de Patrones Espacio-Temporales (SPET) desarrollado por Lu y colaboradores (Lu *et al.*, 2015). Primero se construyen dos vectores con las señales EEG asociadas a los emparejamientos que están presentes tras la eliminación de artefactos en las repeticiones que se van a comparar, cuidando que las señales asociadas a cada emparejamiento concreto estén en el mismo orden en ambos vectores. A continuación se promedian las señales de los diferentes electrodos estableciendo 6 regiones, tal como se muestra en la Figura 9. Luego se aplica un suavizado mediante una ventana móvil de 200 ms en saltos de 50 ms, lo que reduce el tiempo de interés (0-1000 ms) a 40 bins de 20 ms cada uno. El grado de similitud entre las repeticiones se computa a partir de los coeficientes de correlación de Pearson, que han demostrado ser insensibles a la amplitud absoluta y a la varianza de la respuesta del EEG. Finalmente, antes de aplicar la estadística a nivel de grupo, se convierten los coeficientes de correlación de Pearson en coeficientes z de Fisher. En adelante, a la SPET computada entre los patrones de actividad EEG asociados a las diferentes repeticiones presentadas durante la codificación de los emparejamientos la denominaremos SPET<sub>C</sub>.



**Figura 9. Montaje EEG.** Antes de proceder a computar la SPET, se promediaron las señales EEG de los sensores representados en diferentes colores. Las señales de los sensores bicolors se introdujeron en los promedios de las dos áreas correspondientes.

### 3.7.2. Similitud entre la fase de adquisición y la fase de prueba

Para evaluar hasta qué punto se restablecían durante el proceso de reconocimiento los patrones de actividad EEG generados durante la codificación del emparejamiento se computó la SPET entre la señal EEG asociada a la 4ª repetición de la fase de adquisición y la señal EEG asociada a cada una de las repeticiones durante la fase de prueba que tuvo lugar después de una noche completa de sueño. En este caso, el procedimiento solo pudo aplicarse para los emparejamientos recordados que se presentaron de la misma forma que en la fase de adquisición, porque el número final de ensayos olvidados en algunas repeticiones y para algunos participantes era insuficiente para mantener una buena razón señal-ruido. En adelante, la SPET computada para evaluar la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación durante la recuperación la denominaremos  $SPET_{C4-R}$ .



**Figura 10.  $SPET_{C4-R}$  en la fase de prueba.** Similitudes computadas entre las señales EEG asociadas a la 4ª repetición presentada en la fase de adquisición (codificación) y a cada una de las repeticiones presentadas durante la fase de prueba (recuperación). El valor promediado de la diagonal negra se corresponde con la  $SPET_{C4-R}$  específica y el valor promediado de la diagonal gris con la  $SPET_{C4-R}$  categórica.

Como los procesos de consolidación pueden favorecer la diferenciación, pero también la integración de la información recién adquirida en esquemas de conocimiento más amplios, hemos computado la SPET<sub>C4-R</sub> entre emparejamientos idénticos (*i.e.*, SPET<sub>C4-R</sub> específica) y entre emparejamientos que tienen elementos de solapamiento tales como sexo, profesión y condición de congruencia (*i.e.*, SPET<sub>C4-R</sub> categórica). Estas dos formas de similitud están ilustradas en la Figura 10. Un incremento en la SPET<sub>C4-R</sub> específica sería un índice de que la nueva memoria es cada vez más distintiva, mientras que un incremento en la SPET categórica supondría un aumento del solapamiento entre memorias similares y por ende un índice de integración o generalización.

### 3.8. Análisis estadísticos

#### 3.8.1. *Índices comportamentales e índices derivados del análisis de la macro y microestructura del sueño*

Primero se ha evaluado si los diferentes índices de atención y memoria, así como los parámetros relacionados con las fases del sueño y con la identificación de las OLs y los HS siguen una distribución normal aplicando la prueba de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors. Como en todos los casos se ha aceptado la hipótesis nula, se ha aplicado estadística paramétrica. En particular, las diferencias de grupo se han evaluado mediante la *t* de Student. Estos análisis se han llevado a cabo con el programa SPSS v.21. En todos los casos se ha aplicado la corrección de Bonferroni. Además de informar el estadístico *t* con sus correspondientes grados de libertad y el valor de *p*, también se ha estimado el tamaño del efecto (*i.e.*, magnitud de la diferencia entre dos medias) y los intervalos de confianza (*i.e.*, límites probables entre los que se encuentra la verdadera diferencia entre dos medias). El tamaño del efecto estandarizado para las diferencias de grupo se ha estimado a partir de la *d* de Cohen (Cohen, 1992) dividiendo la diferencia de medias por la desviación estándar unificada de ambos grupos ( $DE_{unificada}$ ), la cual se computa a través de la ecuación I:

$$DE_{unificada} = \sqrt{\frac{DE_1^2(n_1 - 1) + DE_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} \quad \text{Ecuación I}$$



En la ecuación,  $n_1$  y  $n_2$  se refieren a los tamaños de las muestras de los dos grupos, y  $DE_1^2$  y  $DE_2^2$  a las desviaciones estandarizadas de ambas muestras. Como la  $d$  de Cohen proporciona una estimación sesgada del tamaño del efecto cuando la muestra es menor de 20, se ha aplicado la corrección de Hedges (Cumming, 2012) a partir de la ecuación II:

$$d_{ajustada} = d \left( 1 - \frac{3}{4(n_1 + n_2) - 9} \right) \quad \text{Ecuación II}$$

Aunque Cohen clasificó los tamaños del efecto estandarizados en pequeño ( $d = 0,2$ ), moderado ( $d = 0,5$ ) y grande ( $d \geq 0,8$ ), estos valores son arbitrarios. A fin de facilitar su interpretación, se ha computado el índice universal del tamaño del efecto propuesto por McGraw y Wong (1992), más conocido como '*common language effect size indicator*' (CL). Este índice expresa la probabilidad de obtener una diferencia entre puntuaciones (i.e., entre dos grupos) mayor que cero en una distribución normal cuya media es la diferencia entre las dos medias muestrales. Para su cómputo se ha aplicado la ecuación III:

$$Z = \frac{|X_1 - X_2|}{\sqrt{DE_1^2 + DE_2^2}} \quad \text{Ecuación III}$$

Los tamaños del efecto se han informado con sus correspondientes intervalos de confianza ( $IC_{0,95}$ ), los cuales proporcionan información sobre la precisión de la estimación y su potencial generalizabilidad y replicabilidad (Banjanovic & Osborne, 2016). En particular, se ha computado el intervalo de sesgo-correcto y acelerado (BCa) a través de la función 'bootci' de matlab (DiCiccio & Efron, 1996; Efron & Tibshirani, 1993). Primero se computa el tamaño del efecto en cada replicación de la muestra original (10,000 replicaciones). Luego, la distribución de muestreo resultante (i.e., distribución *bootstrap*) es corregida por el sesgo (i.e., la inclinación de la distribución) y aceleración (i.e., varianza no constante). Por último, se obtiene el límite inferior y superior para los correspondientes cuantiles (0,025 y 0,975). En los casos en los que esta aproximación no es capaz de arrojar una estimación correcta se aplica el intervalo normal. Dicho

método utiliza la distribución de muestreo *bootstrap* de las diferencias de media para estimar la *DE*. Una vez computado se introduce en la ecuación IV:

$$IC_{0,95} = \text{Tamaño del efecto} \pm t_{\alpha/2}^{df} DE \quad \text{Ecuación IV}$$

Para evaluar el efecto de la repetición sobre los índices de memoria se han aplicado modelos lineales generalizados mixtos. Estos modelos proporcionan una vía de análisis para aquellos datos que se encuentran correlacionados y permiten además modelar la estructura de los errores en datos provenientes de mediciones longitudinales, como en el caso de los datos comportamentales asociados a las repeticiones de los emparejamientos. En un primer paso, se especifica un modelo con los participantes como efecto aleatorio. Este modelo sirve como la línea base sobre la que se sustenta el modelo aditivo que incluye el grupo (DSN, RAS) y las repeticiones (R1, R2, R3, R4) como factores fijos y el modelo de interacción que incluye la interacción entre el grupo y las repeticiones. Para especificar estos modelos se utilizó el paquete *lme4* (Bates *et al.*, 2015) implementado en R v3.0.1 (R Core Team, 2016). A continuación, estos modelos se compararon estadísticamente mediante un ANOVA. Se rechazó la hipótesis nula para cada predictor añadido en pasos sucesivos a los modelos si el ANOVA mostraba una mejora significativa en el ajuste de los datos, lo que implica un aumento significativo de la varianza.

### **3.8.2. Calidad de la codificación y reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación durante la primera prueba de recuperación**

Para determinar a partir de qué repetición el grupo privado de sueño comienza a mostrar una codificación más débil (*i.e.*, similitud específica menor) que el grupo control durante la fase de adquisición hemos aplicado el estadístico *t* de Student para muestras independientes. Este estadístico lo hemos empleado también para evaluar las diferencias de grupo en los valores de similitud específica computados entre la fase de adquisición (4ª repetición) y la fase de prueba (1ª repetición).

Como la SPET se computa para cada bin de tiempo (40 en total) y para cada región de las que se muestran en la Figura 9, que a partir de ahora denominaremos ROIs, y dado que desconocemos la distribución de la similitud, hemos aplicado un análisis de conglomerados basado en permutaciones. Esta aproximación primero agrupa los bins

de tiempo en conglomerados en base a su adyacencia temporal aplicando como umbral un valor de  $p < 0,05$ . El estadístico del conglomerado es el resultado de sumar los estadísticos de los bins agrupados dentro de dicho clúster. A continuación, se repite el mismo procedimiento sobre 10.000 permutaciones de los datos originales utilizando el método de Monte Carlo implementado en Fieldtrip (<http://www.fieldtriptoolbox.org/>). En cada permutación, se selecciona el estadístico máximo teniendo en cuenta las 6 ROIs. Ello permite ejercer un control sobre el error tipo I, concretamente sobre la probabilidad de que uno o más falsos positivos se encuentren bajo la hipótesis nula conocida como *familywise error rate* (FWER) (Maris & Oostenveld, 2007). Cada uno de estos valores sirven para construir una nueva distribución a partir de la cual se determina el valor de  $p$  del conglomerado como la proporción de estadísticos aleatorios que exceden el estadístico del conglomerado original. Además del estadístico  $t$  y el valor de  $p$  del conglomerado, se informa el tamaño del efecto, el  $IC_{0,95}$  y el  $CL$ .

A fin de determinar si las diferencias encontradas en los valores de similitud contribuyen a la memoria se han comparado los emparejamientos recordados frente a los olvidados mediante la  $t$  de Student para muestras pareadas. Al igual que en el caso de las diferencias de grupo, se ha aplicado análisis de conglomerados basado en permutaciones. En este caso se permutan los ensayos entre condiciones. Además del estadístico  $t$  y el valor de  $p$  del conglomerado, se informa el tamaño del efecto, el  $IC_{0,95}$  y el  $CL$ . Para estimar el tamaño del efecto correspondiente a la diferencia de medias entre dos muestras dependientes se ha computado la  $d_{rm}$  de Cohen tal como se muestra en la Ecuación V y luego se ha aplicado la corrección de Hedges tal como se indica en la Ecuación VI (Lakens, 2013).

$$d_{rm} = \frac{M_{dif}}{\sqrt{DE_1^2 + DE_2^2 - 2 \times r \times DE_1 \times DE_2}} \times \sqrt{2 \times (1 - r)} \quad \text{Ecuación V}$$

En la ecuación V,  $M_{dif}$  resulta de restar la media de las diferencias entre condiciones menos el valor de referencia muestral  $\mu$  (e.g., 0), mientras que  $r$  es el coeficiente de correlación entre las dos medidas. La corrección de Hedges se aplicó mediante la ecuación VI:

$$d_{rm\ ajustada} = d_{rm} \left( 1 - \frac{3}{8(n-1)-1} \right) \quad \text{Ecuación VI}$$

Estos análisis se han hecho en todos los participantes y en cada grupo por separado.

### **3.8.3. Relación del acoplamiento OL-HS con la SPET en la fase de adquisición y en la fase de prueba (primera presentación)**

Para determinar el grado de asociación entre la calidad de la codificación (4ª repetición) y los procesos de consolidación (*i.e.*, acoplamiento entre OL-HS) y entre estos últimos y la reactivación de los patrones de actividad EEG asociados a la codificación durante la fase de reconocimiento (1ª repetición), hemos aplicado correlaciones de Pearson utilizando el análisis de conglomerado basado en permutaciones. Este procedimiento se ha repetido para cada uno de los bins de tiempo que definen el acoplamiento de los HS (frontocentrales y centroparietales) con el *upstate* y *downstate* de la OL. Adicionalmente se han computado los tamaños de los efectos y los  $CI_{0.95}$ .

### **3.8.4. Contribución de la calidad de la codificación, del acoplamiento OL-HS y de la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación a la memoria de reconocimiento**

Para determinar si la calidad de la codificación, los procesos de consolidación durante el sueño y la reactivación de la actividad EEG asociada a la codificación durante la fase de reconocimiento a la mañana siguiente contribuyen a explicar la variabilidad en la ejecución de dicha prueba se han aplicado regresiones logísticas utilizando modelos lineales generalizados mixtos. La memoria de reconocimiento en la primera presentación se ha modelado como variable binaria. Las variables explicativas se han estandarizado antes de introducirlas como efectos fijos. Dichos efectos incluyen (i) la  $SPET_{C3-C4}$  entre la 3ª y 4ª repetición en la fase de adquisición (*i.e.*, la media del conglomerado donde hay diferencias de grupo); (ii) el acoplamiento de los HS en el *upstate* de las OLs (todos los bins de tiempo que conformaron el *upstate*); (iii) la  $SPET_{C4-R1}$  entre la 4ª repetición de la fase de adquisición y la 1ª repetición en la fase de prueba (*i.e.*, la media del conglomerado donde hay diferencias de grupo); y (iv) los términos de interacción. Los individuos se han incluido como efecto aleatorio. A fin de evaluar la multicolinealidad, se ha computado el factor de inflación de la varianza, de

manera que valores por encima de 5 se han considerado como evidencia de multicolinealidad (Hair *et al.*, 2010). Se ha partido de un modelo con un único efecto fijo y los individuos como efecto aleatorio, y luego se ha continuado añadiendo efectos fijos. Tras seleccionar el modelo con el criterio de información de Akaike (AIC) más bajo y el máximo logaritmo de verosimilitud (log-likelihood), se ha procedido a evaluar la significación de los coeficientes de regresión incluidos en el modelo aplicando la prueba de Wald, la cual se basa en la normalidad asintótica de los estimadores de máxima verosimilitud. Finalmente, se han transformado los odds ratios (*OR*) y se han computado sus correspondientes  $IC_{0,95}$ . Estos análisis se han realizado con el paquete *lme4* (Bates *et al.*, 2015) implementado en R v3.0.1 (R Core Team, 2016).

#### **3.8.5. Efecto de la calidad de la codificación y del acoplamiento OL-HS sobre la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación durante la recuperación reiterada de la memoria**

Para evaluar el efecto de la relación entre la calidad de la codificación (*i.e.*, SPET<sub>C3-C4</sub>) asociada a una restricción de sueño y el acoplamiento OL-HS sobre los patrones EEG reactivados durante la recuperación reiterada de la memoria (*i.e.*, SPET<sub>C4-R</sub>) se han aplicado análisis de regresión múltiple utilizando modelos lineales generalizados mixtos. Hemos comenzado con un modelo que únicamente incluye los participantes y el tiempo (*i.e.*, los 40 bines de tiempo en los que se evaluó la similitud) como factores aleatorios anidados. A continuación, y tras centrar las variables continuas, hemos aplicado un modelo de efectos mixtos en 4 pasos tanto para la similitud específica como categórica. Primero, hemos evaluado un modelo aditivo con dos variables continuas (SPET<sub>C3-C4</sub>, acoplamiento OL-HS) y dos variables categóricas (repetición y ROI) como efectos fijos. Las interacciones dobles, triples y la cuádruple se han incluido progresivamente en los modelos siguientes. Finalmente, para evaluar si esta relación difiere entre los dos grupos, hemos especificado un modelo adicional de 4 pasos a partir de los datos derivados de la ROI donde fue posible rechazar la hipótesis nula para la asociación anterior. En esta ocasión el factor grupo pasó a sustituir la variable categórica ROI.



#### ***4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

---





## 4. Resultados y discusión

Los resultados derivados de los tres primeros objetivos que se listan en el apartado 2 se han publicado en *Scientific Reports* (Baena *et al.*, 2020, Anexo 1), mientras que los resultados asociados al cuarto objetivo se encuentran bajo revisión (Anexo 2).

### 4.1. Efecto de la restricción de sueño sobre los indicadores conductuales obtenidos en la fase de adquisición de la memoria

La restricción de sueño puede provocar somnolencia e interferir con los procesos atencionales al día siguiente. El primer paso fue, por tanto, evaluar el impacto de dicha manipulación sobre los índices de somnolencia y de atención sostenida obtenidos durante la fase de adquisición. Contrariamente a lo que cabría esperar, las puntuaciones derivadas de la Escala de Somnolencia de Stanford en el grupo DSN (media  $\pm$  DE =  $1,85 \pm 0,55$ ) y en el grupo RAS ( $1,57 \pm 0,51$ ) fueron muy similares ( $t_{25} = 1,34$ ;  $p = 0,19$ ;  $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = 0,51 [-0,09 \ 0,66]$ ;  $CL = 0,37$ ). Este resultado podría explicarse por la propia naturaleza subjetiva de la medida. De hecho, las evidencias sugieren que la autopercepción de la somnolencia no solo no guarda relación con la evaluación objetiva de la misma (Leproult *et al.*, 2003) sino que es menos sensible a la restricción de sueño, incluso cuando se trata de una restricción crónica de sueño (Belenky *et al.*, 2003). Las expectativas generadas por la tarea y los factores circadianos también podrían contribuir a incrementar la variabilidad, reduciendo así la posibilidad de identificar diferencias debidas a la manipulación experimental (Babkoff *et al.*, 1991). Alternativamente, y de forma similar a lo que ocurre con los efectos sobre determinados componentes de la atención y otros procesos cognitivos (Cunningham *et al.*, 2018), es posible que los efectos de la restricción aguda de sueño sobre la somnolencia subjetiva sean menos evidentes cuando se comparan con la restricción crónica de sueño o con la privación total de sueño.

En línea con la anterior hipótesis, cuando se evaluó el impacto de la restricción aguda de sueño sobre los índices de atención sostenida obtenidos durante la tarea de congruencia semántica y perceptiva (Tabla 1), tampoco se encontraron diferencias de grupo en la proporción de falsas alarmas, respuestas anticipadas ( $< 300$  ms), demoras prolongadas ( $> 2500$  ms), o en el coeficiente de variación intraindividual (CV) de los

tiempos de respuesta (TR). Únicamente se observaron diferencias de grupo basadas en el tamaño del efecto en el caso de las demoras prolongadas ( $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = -0,63 [-1,25 -0,58]; CL = 0,47$ ). En particular, el grupo RAS obtuvo un mayor número de demoras prolongadas durante la ejecución de la prueba de congruencia semántica y perceptiva que el grupo DSN en al menos un 47% de las veces. El ANOVA mixto arrojó un efecto principal de las repeticiones para las respuestas prolongadas ( $F_{3,75} = 5,89; p = 0,002; \eta_p^2 = 0,19$ ). Los análisis *post hoc* revelaron una disminución de dichas respuestas conforme aumentó el número de repeticiones, pero solo fue posible rechazar la hipótesis nula cuando se comparó la 1ª y 4ª repetición ( $p = 0,005$ ). En ningún caso hubo efecto de interacción con el grupo.

**Tabla 1.** Índices de atención sostenida durante la fase de adquisición.

Índices de atención sostenida	DSN	RAS	<i>p</i>	$d_{ajustada}(IC_{0,95})$	<i>CL</i>
FA	5,92 ± 5,07	4,36 ± 3,65	0,36	0,34 (-0,09 1,77)	0,25
Respuestas anticipadas	0,23 ± 0,44	1,07 ± 1,73	0,10	-0,63 (-1,25 -0,58)*	0,47
Demoras prolongadas	3,54 ± 4,56	3,43 ± 3,86	0,95	0,02 (-0,70 0,90)	0,01
CVi	0,24 ± 0,03	0,23 ± 0,04	0,39	0,32 (-0,10 1,75)	0,24

Resultados expresados como media ± DE. *CL* = índice universal del tamaño del efecto; FA = Falsas alarmas en dos o más ensayos consecutivos; CVi = Coeficiente de variación intraindividual. \*Los  $IC_{0,95}$  para los tamaños de los efectos permiten rechazar la hipótesis nula.

Aunque parte de los argumentos esgrimidos para explicar la ausencia de diferencias entre los grupos para la somnolencia subjetiva podrían servir para explicar los resultados en relación con la atención sostenida, también es posible que la relación existente entre la somnolencia auto-informada y el grado de motivación para ejecutar la tarea cognitiva haya contribuido a disminuir el impacto esperado de la restricción de sueño sobre este componente de la atención (Axelsson *et al.*, 2020). Sea cual sea la causa por la que no se ha podido rechazar la hipótesis nula para el efecto principal del grupo, cualquier cambio que observemos en la calidad de la codificación es poco probable que se deba a un aumento de la somnolencia subjetiva y/o a un déficit de la atención sostenida durante la fase de adquisición.

En consonancia con lo anterior, y al igual que ocurriera con los indicadores de la atención sostenida, tampoco se hallaron diferencias de grupo en la proporción de aciertos o en los TR mientras los participantes realizaban la tarea de congruencia semántica y perceptiva (Tabla 2). El ANOVA mixto mostró un efecto principal de las repeticiones para el porcentaje de aciertos ( $F_{3,75} = 8,68$ ;  $p = 0,0001$ ;  $\eta_p^2 = 0,26$ ) y para los TR ( $F_{3,75} = 31,47$ ;  $p < 10^{-12}$ ,  $\eta_p^2 = 0,56$ ). En ambos casos, se produjo una mejora con el número de repeticiones que fue independiente de la manipulación del sueño en la noche previa, tal como se infiere a partir de la ausencia de efecto de interacción (porcentaje de aciertos:  $F_{3,75} = 1,28$ ;  $p < 0,29$ ,  $\eta_p^2 = 0,049$ ; TR:  $F_{3,75} = 0,23$ ;  $p < 0,87$ ;  $\eta_p^2 = 0,009$ ).

**Tabla 2.** Porcentaje de aciertos y TR durante la ejecución de la prueba de congruencia semántica y perceptiva.

Indicadores conductuales	DSN	RAS	<i>p</i>	<i>d</i> <sub>ajustada</sub> ( <i>IC</i> <sub>0,95</sub> )	<i>CL</i>
Porcentaje de aciertos	85,1 ± 2,3	85,5 ± 2,2	0,9	-0,04 (-0,91 0,69)	0,03
TR (ms)	1365,1 ± 69,4	1456,8 ± 66,9	0,3	-0,35 (-0,69 0,92)	0,26

Resultados expresados como media ± DE. *CL* = índice universal del tamaño del efecto.

La mejora observada con el aumento de las repeticiones en los índices conductuales durante la fase de prueba que sigue inmediatamente a la presentación del emparejamiento (tras un intervalo de 5 s) podría deberse a que la presentación repetida de un mismo evento facilita la recuperación y fortalecimiento de una representación que es cada vez más consistente (Xue *et al.*, 2010). Si este argumento fuera correcto, y dado que no hubo diferencias de grupo en los indicadores conductuales, tampoco cabría esperar diferencias en la calidad de la codificación evaluada a través de la similitud en los patrones de actividad EEG, contradiciendo la hipótesis de partida del presente estudio.

Alternativamente, la mejora comportamental que se produjo con las repeticiones podría estar reflejando una mejora en los mecanismos neurales que soportan la memoria operativa como resultado de la práctica (Rainer & Miller, 2000; Sayala *et al.*, 2006). Estos estudios evaluaron los cambios en el patrón de actividad neural durante los

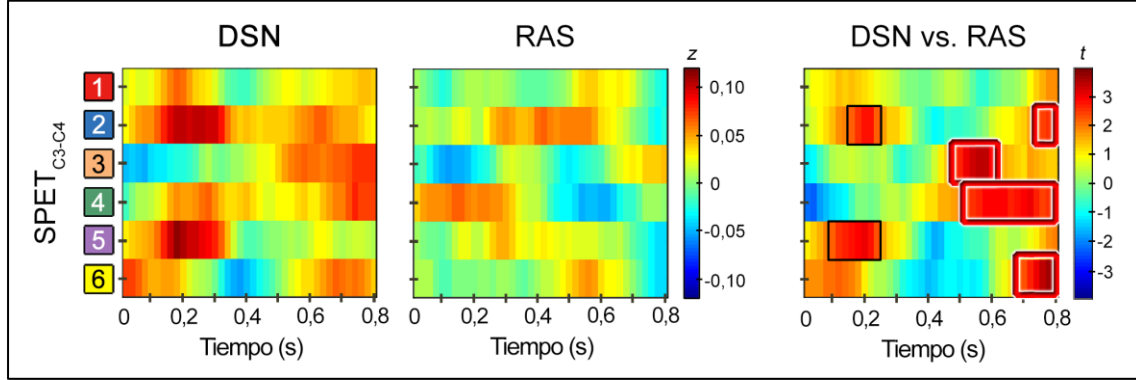
periodos de codificación, retención y prueba. Ambos estudios informaron una disminución en el nivel de actividad neural durante el periodo de mantenimiento de la información, pero solo en uno de ellos se vio acompañado por una mejora en la ejecución de la tarea (Rainer & Miller, 2000).

Dado que, como veremos a continuación, la restricción de sueño tuvo un impacto negativo sobre la calidad de la codificación, es poco probable que la mejora en el porcentaje de aciertos y el acortamiento en los TR observados en la fase de aprendizaje con el aumento de las repeticiones se deba a los cambios que sufren los engramas responsables de la codificación de dicho evento. Es muy posible, por tanto, que el beneficio de la práctica se deba a mejoras en la eficiencia de los mecanismos responsables del mantenimiento de la información perceptiva, espacial y semántica en la memoria operativa. No obstante, esta conclusión necesita confirmación a partir de análisis adicionales basados, por ejemplo, en la evaluación de la potencia de la señal espectro-temporal en el periodo de mantenimiento. Desafortunadamente, la cantidad de ensayos disponibles para cada repetición en el presente estudio hacen inviable dicho análisis.

#### **4.2. Efecto de la restricción de sueño sobre la calidad de la codificación evaluada a través de la similitud de patrones EEG**

Un objetivo prioritario del presente estudio fue determinar si la restricción aguda de sueño puede debilitar la codificación de nuevas memorias durante la exposición reiterada de un evento episódico. Los análisis basados en la similitud de patrones del EEG entre repeticiones de los mismos emparejamientos mostraron diferencias entre los grupos, concretamente para la  $SPET_C$  computada entre la 3ª y 4ª repetición ( $SPET_{C3-C4}$ ). Tal como se ilustra en la Figura 11, el grupo DSN mostró una  $SPET_{C3-C4}$  de mayor magnitud que el grupo RAS en dos intervalos de tiempo, aunque solo en el más tardío (500-800 ms) el efecto principal del grupo sobrevivió a la corrección por múltiples comparaciones ( $t_{25} = 3,46$ ;  $p_{corregida} = 0,024$ ;  $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = 1,16 [1,10 \ 1,21]$ ;  $CL = 0,84$ ). No obstante, el tamaño del efecto para las diferencias encontradas en el intervalo más temprano (100-300 ms) permite igualmente rechazar la hipótesis nula ( $t_{25} = 3,06$ ;  $p_{no-$

$corregida = 0,005$ ;  $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = 1,602 [1,601 \ 1,603]$ ;  $CL = 1,16$ ). De hecho, la estimación de este parámetro fue altamente precisa tal como se infiere a partir del estrecho  $IC_{0,95}$ .



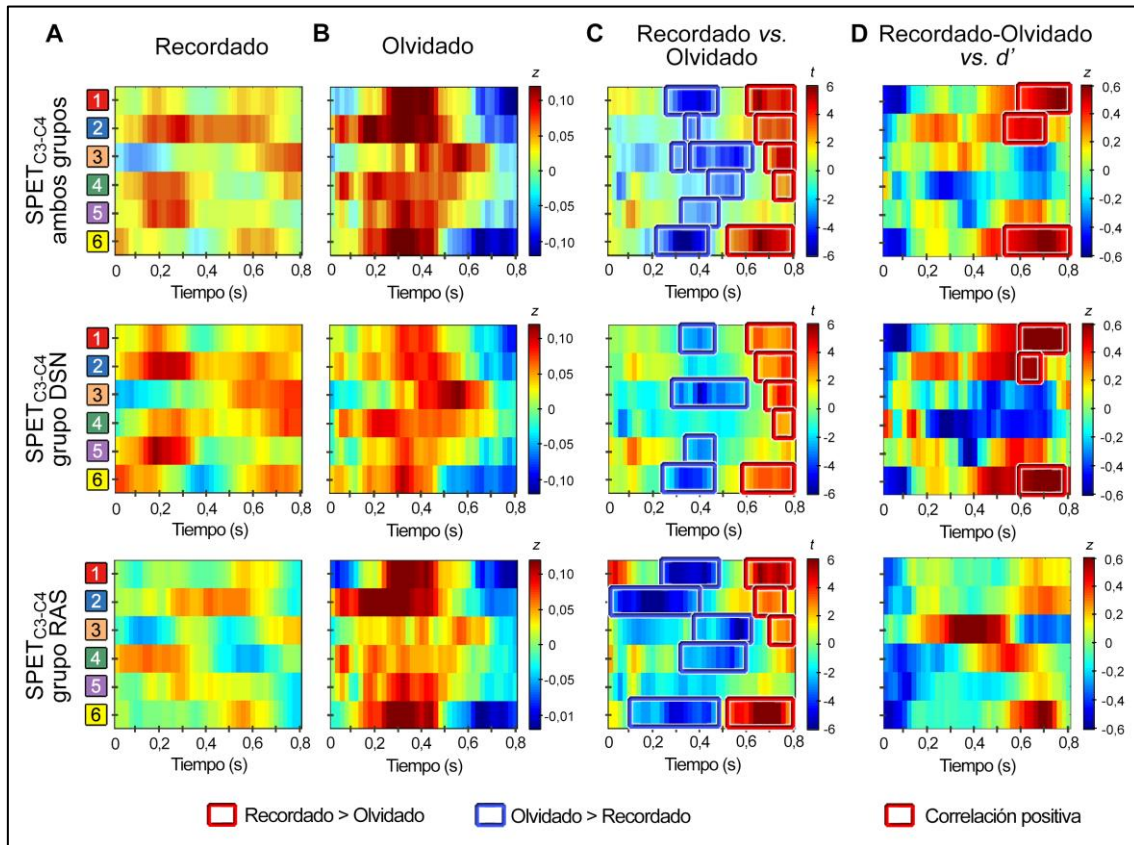
**Figura 11. Efecto de la restricción de sueño sobre la SPET<sub>C3-C4</sub>.** Valor medio de la SPET<sub>C3-C4</sub> (transformación z de Fisher) durante la fase de adquisición entre la 3ª y 4ª repetición de los emparejamientos que fueron posteriormente recordados en la fase de prueba para los grupos DSN y RAS. El eje x representa el tiempo, y el eje y las ROIs representadas en la Figura 9. Los valores del estadístico  $t$  para las diferencias de grupo se muestran en el panel derecho. Los recuadros indican los intervalos espacio-temporales en los que fue posible rechazar la hipótesis nula. El conglomerado más temprano (100-300 ms) enmarcado con una línea negra no sobrevivió la corrección por múltiples comparaciones, mientras que el más tardío (500-800 ms) enmarcado con una línea roja indica que el conglomerado sobrevivió a dicha corrección.

Estos resultados sugieren que una demora de 4 h en el momento de acostarse podría ser suficiente para alterar los procesos de codificación al día siguiente. El hecho de que las diferencias de grupo emergieran tras la 4ª repetición del emparejamiento indica que los efectos de la restricción de sueño no afectan a la codificación inicial de un evento, sino a los procesos de recuperación y consiguiente fortalecimiento de las representaciones mnémicas como resultado de la presentación reiterada de un mismo evento. A continuación, determinaremos si estas diferencias repercuten en la formación de la memoria. Para ello evaluaremos si la reactivación de los patrones EEG que se produce durante la 4ª repetición del evento es mayor para los emparejamientos que son reconocidos correctamente en la fase de prueba realizada al día siguiente, tras una noche completa de sueño, frente a los que no se reconocen y si dicha asociación es más fuerte en el grupo DSN que en el grupo RAS.

### 4.3. Contribución de la restricción de sueño y calidad de la codificación a la memoria de reconocimiento

Para determinar si la calidad de la codificación está relacionada con la memoria de reconocimiento comparamos la  $SPET_C$  entre las diferentes repeticiones de los emparejamientos que fueron reconocidos correctamente en la fase de prueba (recordados) frente a aquellos que no lo fueron (olvidados). En particular, nos hemos centrado en los resultados derivados de la  $SPET_{C3-C4}$ . Los resultados derivados de las otras repeticiones pueden consultarse en el material suplementario del Anexo I (Results S2).

La Figura 12 muestra la  $SPET_{C3-C4}$  promediada a través de todos los participantes y para cada grupo por separado tanto para los emparejamientos recordados (Figura 12A) como olvidados (Figura 12B). La estabilidad de los patrones de actividad EEG evaluados por la  $SPET_{C3-C4}$  contribuyeron al reconocimiento exitoso cuando se reactivaron entre los 500 y 800 ms ( $t_{25} = 5,83$ ;  $p_{corregida} = 0,002$ ;  $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = 1,07 [0,63 \text{ } 1,50]$ ;  $CL = 0,77$ ). Por el contrario, la reactivación de los patrones EEG en un intervalo más temprano, 200-600 ms, contribuyeron al olvido ( $t_{25} = 6,51$ ;  $p_{corregida} < 10^{-5}$ ;  $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = -1,52 [-2,36 - 0,75]$ ;  $CL = 1,07$ ). Como cabría esperar, el patrón espacio-temporal de las diferencias entre recordado y olvidado fue similar en ambos grupos (Figura 12C).



**Figura 12. Contribución de la calidad de la codificación a la formación de la memoria.** A) Valor medio de la SPET<sub>C3-C4</sub> (transformación  $z$  de Fisher) durante la fase de adquisición entre la 3ª y 4ª repetición de los emparejamientos recordados durante la fase de prueba realizada al día siguiente. El eje  $x$  representa el tiempo, y el eje  $y$  las ROIs representadas en la Figura 9. B) Lo mismo que en A para los emparejamientos olvidados en la fase de prueba. C) Valores del estadístico  $t$  para la diferencias entre emparejamientos recordados y olvidados en ambos grupos y en cada grupo por separado. Los recuadros indican los intervalos espacio-temporales donde fue posible rechazar la hipótesis nula para las diferencias entre condiciones. D) Relación entre la diferencia en los valores de SPET<sub>C3-C4</sub> debida a la memoria y el índice conductual  $d'$  obtenido en la fase de prueba. Los recuadros indican los intervalos espacio-temporales donde fue posible rechazar la hipótesis nula para la correlación con el comportamiento en los dos grupos combinados y en cada grupo por separado.

A continuación, evaluamos si las diferencias en la SPET<sub>C3-C4</sub> debida a la memoria estaban relacionadas con el índice de precisión  $d'$  obtenido en la fase de prueba. Como se ilustra en la Figura 12D, esta correlación fue positiva para el conglomerado que contribuyó al reconocimiento exitoso de los emparejamientos ( $r_{25} [IC_{0.95}] = 0,61 [0,27, 0,81]$ ;  $p_{corregida} = 0,02$ ;  $CL = 1,13$ ). Aunque la asociación fue especialmente fuerte en el grupo DSN ( $r_{11} [IC_{0.95}] = 0,74 [0,34, 1,18]$ ;  $p_{corregida} = 0,037$ ;  $CL = 0,96$ ), no fue posible

rechazar la hipótesis nula para el efecto principal del grupo en los coeficientes de regresión.

Dado que la calidad de la codificación fue peor en el grupo RAS que en el grupo DSN y ésta contribuyó a la formación de la memoria, a continuación, evaluamos si los indicadores comportamentales de la memoria de reconocimiento diferían entre los dos grupos de participantes. Los diferentes índices de comportamiento obtenidos tras la primera presentación de las caras emparejadas bien de la misma forma que en la fase de adquisición bien de forma diferente fueron muy similares en ambos grupos. Tal como se muestra en la Tabla 3, no fue posible rechazar la hipótesis nula para el índice de precisión  $d'$ , pero el análisis arrojó diferencias de grupo basadas en los tamaños de los efectos para el resto de índices conductuales.

**Tabla 3.** Indicadores conductuales en la fase de prueba para los grupos DSN y RAS.

Indicadores conductuales	DSN	RAS	$t_{25}$	$p$	$d_{ajustada}(IC_{0,95})$	$CL$
$d'$	0,61 $\pm$ 0,52	0,53 $\pm$ 0,32	0,54	0,59	0,20 (-0,33 1,28)	0,13
% aciertos	0,68 $\pm$ 0,11	0,59 $\pm$ 0,15	1,82	0,08	0,68 (0,60 1,75)*	0,50
% FA	44,7 $\pm$ 19,0	38,8 $\pm$ 10,9	1,00	0,33	0,37 (0,01 1,74)*	0,27
TR (ms)	1693,6 $\pm$ 227,3	1800,6 $\pm$ 217,0	-1,25	0,22	-0,47 (-1,94 -0,18)*	0,34

Resultados expresados como media  $\pm$  DE. FA = falsas alarmas;  $CL$  = índice universal del tamaño del efecto.

\*Los  $IC_{0,95}$  para los tamaños de los efectos permiten rechazar la hipótesis nula.

Cuando no es posible rechazar la hipótesis nula y el tamaño de la muestra es pequeño, siempre cabe la posibilidad de que el resultado se deba a la falta de potencia estadística. A fin de evaluar esta posibilidad, hemos comparado las diferencias de medias y los tamaños de los efectos obtenidos en nuestro estudio con aquellos derivados de un estudio previo conducido en una muestra de tamaño similar y en el que, a diferencia de nuestro estudio, el grupo experimental había sido sometido a una privación total de sueño en la noche previa a la fase de adquisición de la memoria (Yoo *et al.*, 2007). La diferencia entre el índice de discriminabilidad  $d'$  al comparar el grupo control con el grupo privado de sueño fue 0,41 en el estudio de Yoo, mientras que en el nuestro fue 0,09. Los tamaños de los efectos, 2,14 en el estudio de Yoo y 0,2 en el nuestro, también



fueron muy diferentes. Esto significa que la probabilidad de que un participante control mostrara un índice de precisión  $d'$  mayor que un participante privado de sueño fue del 97,9% en el estudio de Yoo y de tan solo el 13% en nuestro estudio. Parece, por tanto, poco plausible que el error tipo II sea la causa por la que no fue posible rechazar la hipótesis nula en nuestro estudio. En lo que se refiere al porcentaje de aciertos, el tamaño del efecto nuevamente fue mucho menor en comparación con el obtenido por Yoo y colaboradores (0,68 vs. 3,44). Desafortunadamente, el porcentaje de falsas alarmas no fue informado en este estudio y no podemos compararlos, pero el tamaño del efecto en nuestro estudio también permitió rechazar la hipótesis nula, lo que probablemente explique la ausencia de diferencias de grupo en lo que se refiere al índice de discriminabilidad  $d'$ .

Por tanto, y aún cuando no es posible descartar que la restricción de sueño haya ejercido un impacto sobre la precisión de la memoria de reconocimiento, un efecto que podría haber emergido de haber trabajado con tamaños de muestras más grandes, esta hipótesis es poco plausible. De hecho, para descartar esta posibilidad hemos estimado el tamaño muestral requerido para identificar diferencias de grupo asumiendo una potencia estadística del 95% y un tamaño del efecto la mitad de pequeño que el reportado en el estudio de Yoo y colaboradores (Yoo *et al.*, 2007), concretamente de 1,7. Para ello hemos utilizado la interfaz proporcionada por GPower vs. 3.1. El tamaño muestral requerido habría sido de 11 participantes por grupo. Dado que la principal diferencia entre los dos estudios fue la manipulación del sueño aplicada en la noche previa a la codificación (restricción de 4 h de sueño frente a privación total de sueño), cabe la posibilidad de que la merma en la calidad de la codificación inducida por la falta de sueño sea dependiente de la dosis. Nuestros resultados sugieren que los daños producidos en la codificación como resultado de una restricción de 4 h de sueño podrían ser revertidos, al menos en parte, por los procesos de consolidación que tienen lugar durante el sueño siguiente, una hipótesis que se evaluará en el apartado 4.8

No obstante, es importante resaltar que el grupo RAS mostró TR más lentos que el grupo DSN. Estas diferencias podrían estar motivadas por reactivaciones más tardías y/o por el uso de estrategias diferentes, probablemente más basadas en la recuperación de detalles específicos, un aspecto que será evaluado en el apartado 4.6.

#### 4.4. Efecto de la restricción aguda de sueño sobre la macroestructura y microestructura del sueño en la noche siguiente a la fase de adquisición

La Tabla 4 muestra las diferencias de grupo para cada uno de los parámetros que definen la macroestructura del sueño. Tal como se muestra en dicha tabla, no fue posible rechazar la hipótesis nula para ninguno de los parámetros una vez se aplicó la corrección de Bonferroni. Sin embargo, si consideramos los tamaños de los efectos, la restricción aguda de sueño supuso una reducción en la latencia del comienzo del sueño ( $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = 0,65 [0,52 \ 2,03]; CL = 0,47$ ) y una disminución en el porcentaje de N1 ( $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = -0,56 [-1,63 \ -0,35]; CL = 0,41$ ) con respecto al grupo DSN. Estos resultados van en consonancia con el componente homeostático contemplado en el modelo de dos procesos de regulación del sueño (Borbély, 1982).

Estudios previos han mostrado que la restricción de sueño supone un aumento en el porcentaje de SOL, debido fundamentalmente a un aumento en la fase 4, un incremento que correlaciona con el número de noches consecutivas en el que se ha producido dicha restricción (Wu *et al.*, 2010). El hecho de que no hayamos encontrado diferencias de grupo en lo que respecta al porcentaje de N3 podría deberse, en primer lugar, a que no se ha distinguido entre las fases 3 y 4 del SOL y, en segundo lugar, a que se aplicó una restricción aguda en vez de una restricción crónica de sueño. De hecho, y en consonancia con la primera de estas hipótesis, cuando evaluamos las diferencias de grupo para las fases 3 y 4 por separado fue posible rechazar la hipótesis nula únicamente para la fase 4 ( $p = 0,003$ ). Tal como cabría esperar, el porcentaje de fase 4 en la noche siguiente a la fase de adquisición fue mayor en el grupo RAS ( $24,0 \pm 4,3$ ) que en el grupo DSN ( $18,2 \pm 4,7$ ).

**Tabla 4.** Parámetros que definen la macroestructura del sueño en la noche siguiente a la fase de adquisición en el grupo DSN y RAS.

Parámetros	DSN	RAS	$t_{25}$	$p$	$d_{ajustada}(IC_{0,95})$	CL
TS (min)	478,81 ± 19,05	478,51 ± 10,26	0,50	0,96	0,02 (-0,84 0,71)	0,01
LIS (min)	8,90 ± 6,41	5,22 ± 4,54	1,73	0,09	0,65 (0,52 2,03)*	0,47
Latencia N3 (min)	25,67 ± 11,79	16,89 ± 6,86	2,39	0,02	0,89 (-4,70 3,58)	0,64
Latencia MOR (min)	75,70 ± 29,59	81,51 ± 20,93	-0,59	0,56	-0,22 (-1,02 0,39)	0,16
Tiempo despierto (%)	3,52 ± 2,14	3,01 ± 1,12	0,78	0,44	0,29 (-0,16 1,58)	0,21
N1 (%)	5,84 ± 2,54	3,47 ± 1,60	2,93	0,01	1,09 (0,75 2,95)*	0,79
N2 (%)	37,53 ± 4,92	37,64 ± 7,43	-0,05	0,96	-0,02 (-0,72 0,82)	0,01
N3 (%)†	27,23	29,71	0,65	0,22	-2,23 (-7,33 1,36)	0,36
MOR (%)	25,76 ± 4,96	25,50 ± 3,71	0,15	0,88	0,06 (-0,64 0,89)	0,04
ES (%)	96,54 ± 2,02	96,97 ± 1,21	-0,61	0,54	-0,23 (-1,48 0,27)	0,17

Resultados expresados como media ± DE. TTS = tiempo total de sueño; LIS = latencia de inicio del sueño; ES = eficiencia de sueño. \*Tamaño del efecto significativo. † Datos que no se ajustan a una distribución normal. En este caso se reporta la mediana, la U de Mann-Whitney y la diferencia de las medianas. \*Los  $IC_{0,95}$  para los tamaños de los efectos permiten rechazar la hipótesis nula.

En lo que respecta a la microestructura del sueño, tampoco se encontraron diferencias de grupo para los diferentes parámetros que definen a las OLs y a los husos rápidos de sueño registrados en regiones frontocentrales ( $HS_{FC}$ ) y centroparietales ( $HS_{CP}$ ). Tal como se muestra en la Tabla 5, el único parámetro afectado por la restricción aguda de sueño fue la duración del *upstate* de las OLs ( $t_{25} = 3,27$ ;  $p = 0,003$ ;  $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = 1,218 [1,217 \ 1,219]$ ;  $CL = 0,88$ ). Esta fue unos 20 ms mayor en el grupo DSN ( $0,68 \pm 0,02$ ) que en el grupo RAS ( $0,66 \pm 0,02$ ).

#### 4.4. Efecto de la restricción aguda de sueño sobre la macroestructura y microestructura del sueño en la noche siguiente a la fase de adquisición

**Tabla 5.** Parámetros que definen las ondas lentas y los husos rápidos de sueño en áreas frontocentrales y centroparietales durante el sueño siguiente a la fase de adquisición en el grupo DSN y RAS.

Parámetros	DSN	RAS	$t_{25}$	$p$	$d_{ajustada}(IC_{0,95})$	CL
<b>Ondas lentas</b>						
Frecuencia (Hz)	0,85 ± 0,03	0,88 ± 0,03	-1,90	0,07	-0,76 (-1,45 -0,74)*	0,55
Densidad (num/min)	4,71 ± 2,70	3,97 ± 1,79	0,88	0,39	0,32 (-0,07 1,59)	0,23
Amplitud (μV)	210,9 ± 36,2	204,7 ± 14,3	0,59	0,56	0,22 (-0,3 1,42)	0,16
Duración (s)	1,21 ± 0,05	1,18 ± 0,04	2,08	0,05	0,74 (0,72 1,47)*	0,54
Duración <i>downstate</i> (s)	0,53 ± 0,04	0,52 ± 0,04	0,54	0,59	0,21 (-0,33 1,29)	0,15
Duración <i>upstate</i> (s)	0,68 ± 0,02	0,66 ± 0,02	3,27	0,003	1,218 (1,217 1,219)*	0,88
<b>Husos frontocentrales</b>						
Frecuencia (Hz)	13,70 ± 0,12	13,68 ± 0,11	0,45	0,65	0,17 (-0,43 1,11)	0,12
Densidad (num/min)	0,57 ± 0,33	0,55 ± 0,32	0,22	0,83	0,08 (-0,61 0,89)	0,06
Amplitud (μV)	8,30 ± 2,45	8,29 ± 2,13	0,02	0,99	0,01 (-0,74 0,78)	0
Duración (s)	0,82 ± 0,07	0,86 ± 0,08	-1,56	0,13	-0,59 (-1,42 -0,43)*	0,43
Intensidad	0,11 ± 0,03	0,11 ± 0,03	-0,26	0,79	-0,1 (-0,97 0,55)	0,07
<b>Husos centroparietales</b>						
Frecuencia (Hz)	13,7 ± 0,17	13,7 ± 0,14	0,28	0,78	0,01 (-0,56 1,03)	0,07
Densidad (num/min)	0,31 ± 0,21	0,33 ± 0,20	-0,16	0,87	-0,07 (-0,85 0,67)	0,05
Amplitud (μV)	10,27 ± 3,18	9,55 ± 2,00	0,70	0,49	0,26 (-0,20 1,61)	0,19
Duración (s)	0,82 ± 0,08	0,87 ± 0,08	-1,85	0,08	-0,68 (-1,61 -0,61)*	0,49
Intensidad	0,09 ± 0,03	0,09 ± 0,02	-0,65	0,52	-0,23 (-1,17 0,31)	0,17

Resultados expresados como media ± DE. Intensidad = duración/amplitud. \*Los  $IC_{0,95}$  para los tamaños de los efectos permiten rechazar la hipótesis nula.

Las diferencias halladas en lo que se refiere a la duración del *upstate* requieren especial atención ya que hay evidencias de que ésta aumenta con la mejora de la memoria (Heib *et al.*, 2013). Los autores de este estudio proponen que una mayor duración del *upstate* podría proporcionar una ventana de tiempo más larga para la reactivación y transferencia de las memorias recientemente codificadas. Sin embargo, la discriminabilidad ( $d'$ ) no mostró relación alguna con este parámetro en nuestro estudio ni cuando la correlación se realizó sobre la muestra combinada ( $r_{25} [IC_{0,95}] = 0,37 [-0,13 0,74]$ ;  $CL = 0,62$ ), ni tampoco cuando el análisis se restringió a cada grupo por separado

(DSN:  $r_{11} [IC_{0,95}] = 0,54 [-0,34 \ 0,89]$ ;  $CL = 0,68$ ; RAS:  $r_{12} [IC_{0,95}] = 0,09 [-0,42 \ 0,60]$ ;  $CL = 0,52$ ).

El análisis de los tamaños de los efectos también puso de manifiesto un efecto de la restricción aguda de sueño sobre otros parámetros a nivel poblacional, tales como la frecuencia dominante de las OLs ( $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = -0,76 [-1,45 \ -0,74]$ ,  $CL = 0,55$ ), la duración de las OLs ( $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = 0,74 [0,72 \ 1,47]$ ,  $CL = 0,54$ ) y la duración de los HS, tanto para los HS<sub>FC</sub> ( $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = -0,59 [-1,42 \ -0,43]$ ,  $CL = 0,43$ ) como para los HS<sub>CP</sub> ( $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = -0,68 [-1,61 \ -0,61]$ ,  $CL = 0,49$ ). En particular, los análisis revelaron una frecuencia de OLs mayor, una duración de las OLs menor, y una duración de los HS mayor en el grupo RAS que en el grupo DSN.

Estos cambios son difíciles de explicar a raíz de los resultados observados tras una privación de sueño. Por ejemplo, Bersagliere y Achermann (2010) informaron que los participantes que permanecían despiertos 40 h mostraban un aumento en el número de OLs por minuto para aquellas oscilaciones mayores de 1,2 Hz y un decremento para las que mostraban frecuencias por debajo de 0,9 Hz. En nuestro estudio, aunque hubo una ligera reducción en la densidad de OLs tras la restricción de sueño, no fue posible rechazar la hipótesis nula. En otro estudio en el que se evaluaron los efectos de 40 h sin dormir sobre los parámetros que definen los HS se encontró un incremento de la amplitud y una reducción de la densidad, y ningún efecto sobre la duración (Knoblauch *et al.*, 2003), justo lo contrario de lo observado en el presente estudio.

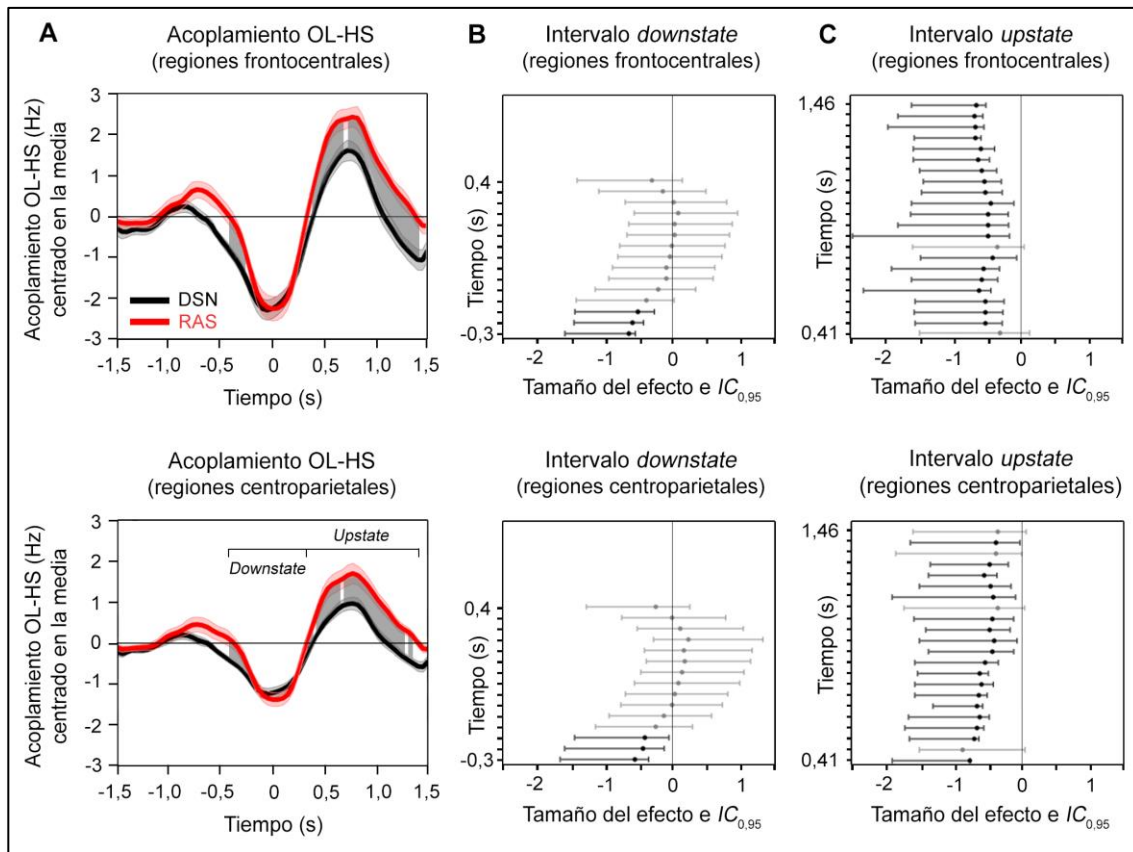
Más allá de las diferencias en la cantidad de tiempo que los participantes permanecen despiertos en nuestro estudio y en los estudios de privación de sueño, es posible que las discrepancias en los resultados se deban a que nosotros hemos limitado el análisis a la fase N3 mientras que los estudios anteriores no distinguen entre N1, N2 y N3. Para hacer los estudios comparables sería además necesario evaluar las diferentes oscilaciones cerebrales en diferentes derivaciones, lo cual supone un gran reto metodológico, ya que diferentes fuentes generadoras pueden suponer cambios en las mismas derivaciones (Olbrich *et al.*, 2013).

#### 4.5. Contribución de la restricción de sueño y calidad de la codificación al acoplamiento OL-HS en la noche siguiente a la fase de adquisición

Dado que el acoplamiento entre OLs y HS ha demostrado ser un buen indicador de los procesos de consolidación durante el sueño, y dado que las memorias que son codificadas de forma más débil parecen beneficiarse de estos procesos en mayor medida que las memorias más fuertes, el primer paso fue evaluar si la magnitud de este acoplamiento era mayor en el grupo RAS que en el grupo DSN.

En consonancia con estudios previos (e.g., Mölle *et al.*, 2002, 2011; Fogel & Smith, 2011; Staresina *et al.*, 2015), los HS, tanto los HS<sub>FC</sub> como los HS<sub>CP</sub>, disminuyeron en el *downstate* de las OLs y aumentaron en el *upstate*. La Figura 13A ilustra como el acoplamiento temporal de los HS en el *upstate* de las OLs fue mayor en el grupo RAS en comparación con el grupo DSN.

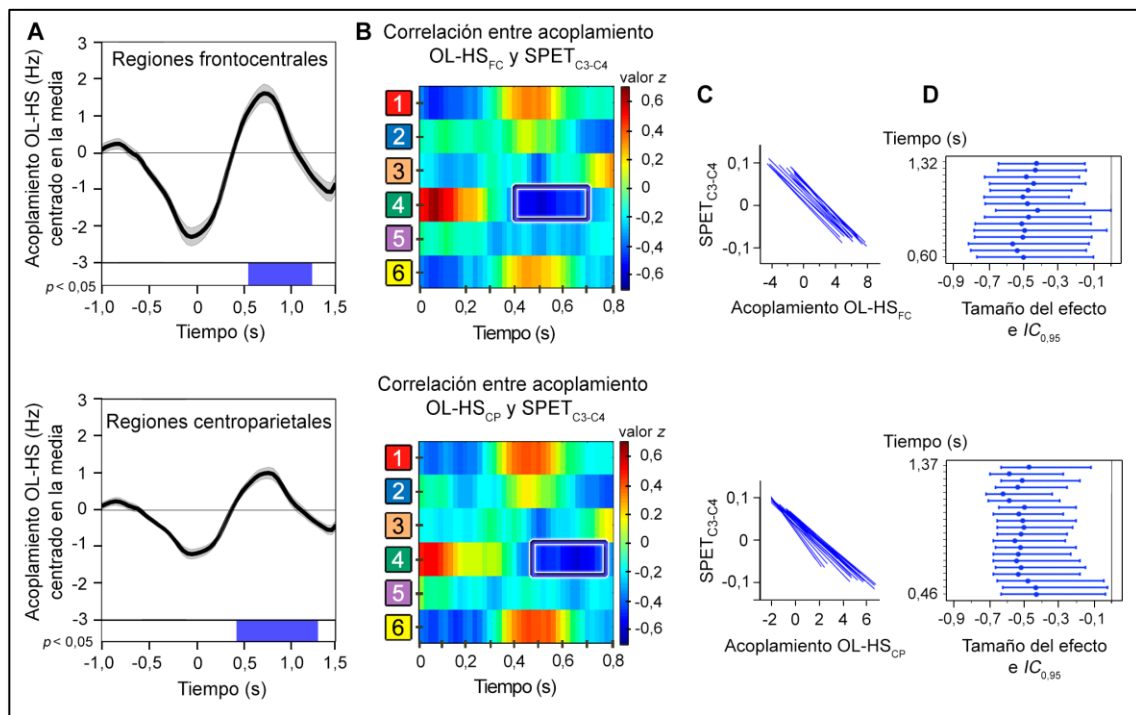
Aunque el efecto principal del grupo no sobrevivió la corrección por múltiples comparaciones, los  $IC_{0,95}$  para los tamaños de los efectos permitieron rechazar la hipótesis nula para la mayoría de los bins temporales en el *upstate* de las OLs, pero no durante el *downstate* (Figura 13B-C). Este resultado fue independiente de que los HS se registraran en zonas frontocentrales (los tamaños de los efectos oscilaron entre 0,35 y 0,65) o centroparietales (los tamaños de los efectos oscilaron entre 0,38 y 0,88).



**Figura 13. Efecto de la restricción de sueño sobre el acoplamiento OL-HS durante la noche siguiente a la fase de adquisición.** A) Histograma de correlación de eventos entre las OLs y los HS registrados en los electrodos frontocentrales (arriba) y centroparietales (abajo) para el grupo DSN (línea negra) y el grupo RAS (línea roja). La sombra alrededor de la línea indica la *DE*. La presencia de HS disminuyó en el *downstate* de las OLs y aumentó en el *upstate*. Las barras grises verticales indican los bins de tiempo en donde fue posible rechazar la hipótesis nula para los tamaños de los efectos. B) Tamaños de los efectos ( $d_{ajustada}$ ) e  $IC_{0.95}$  durante el *downstate* de las OLs para los  $HS_{FC}$  (arriba) y  $HS_{CP}$  (abajo). C) Lo mismo que en B para el *upstate* de las OLs.

A continuación, quisimos evaluar si la calidad de la codificación, la cual hemos visto que disminuyó tras la 4ª repetición del evento en el grupo RAS comparado con el grupo DSN, estaba asociada con el grado de acoplamiento de los HS en el *upstate* de las OLs. Si dicho acoplamiento es un índice de los procesos de consolidación y estos son más plausibles cuanto menor es la calidad de la codificación, la correlación entre ambos fenómenos debería ser negativa. En consonancia con esta hipótesis, fue posible rechazar la hipótesis nula para dicha asociación, al menos atendiendo a los  $IC_{0.95}$  para los tamaños de los efectos, aunque los valores de  $p$  no cruzaron el umbral estadístico

tras la corrección por múltiples comparaciones. Como se ilustra en la Figura 14, el acoplamiento entre los HS y el *upstate* de las OLs (Figura 14A) correlacionó negativamente con la SPET<sub>C3-C4</sub> (Figura 14B) entre 400-600 ms para los HS<sub>FC</sub> ( $-0,54 < r_{25} < -0,43$ ;  $0,004 < p_{no-correctada} < 0,026$ ) y entre 500-700 ms para los HS<sub>CP</sub> ( $-0,53 < r_{25} < -0,4$ ;  $0,004 < p_{no-correctada} < 0,029$ ). Las pendientes de regresión y los tamaños de los efectos con sus correspondientes  $IC_{0,95}$  se muestran en la Figura 14C y 14D, respectivamente.



**Figura 14. Relación entre la SPET<sub>C</sub> y el acoplamiento OL-HS durante la noche siguiente a la fase de adquisición.** A) Histograma de correlación de eventos entre las OLs y los HS<sub>FC</sub> y los HS<sub>CP</sub> para los dos grupos de participantes combinados. La sombra alrededor de la línea indica la DE. B) Correlación entre la SPET<sub>C3-C4</sub> y el acoplamiento entre OLs y HS<sub>FC</sub> (arriba) y HS<sub>CP</sub> (abajo). El eje x representa el tiempo, y el eje y las ROIs representadas en la Figura 9. El recuadro azul indica el intervalo espacio-temporal donde fue posible rechazar la hipótesis nula para la correlación negativa. C) Pendientes de regresión para cada uno de los bins de tiempo representados en B. D) Tamaños del efecto e  $IC_{0,95}$  para cada uno de los bins de tiempo representados en B.



Hasta donde llega nuestro conocimiento, este es el primer estudio que ha puesto de manifiesto la relación existente entre la calidad de la codificación y los procesos de consolidación que tienen lugar en el periodo de sueño siguiente. En un estudio previo, Yordanova y colaboradores encontraron que la dinámica espacio-temporal entre los HS y las OLs durante el sueño estaba moderada por el nivel de activación que se producía durante la fase de aprendizaje (Yordanova *et al.*, 2017). Los autores utilizaron una tarea de aprendizaje implícito que inducía asimetrías en la corteza viso-motora. Posteriormente estudiaron si las posibles asimetrías en el grado de acoplamiento OL-HS dependía de las asimetrías que se hubieran producido en el nivel de activación en la vigilia previa. Para evaluar las asimetrías en el acoplamiento OL-HS, registraron este acoplamiento en dos noches, una precedida por la tarea de aprendizaje y otra que no fue precedida por ninguna tarea. Para estudiar las asimetrías durante la fase de aprendizaje evaluaron el grado de desincronía en las oscilaciones alpha y beta durante la ejecución de la tarea. Los resultados pusieron de manifiesto que el aprendizaje únicamente afectaba al acoplamiento de los HS rápidos en el *upstate* de las OLs en el lugar previamente entrenado (Yordanova *et al.*, 2017). Aunque estos resultados también podrían ser un reflejo del componente homeostático del modelo de dos procesos de regulación del sueño, es poco probable, ya que los autores no encontraron correlación entre el nivel de activación local que se produjo en la fase de aprendizaje y el grado de acoplamiento OL-HS en el lugar entrenado.

Tomados en su conjunto, nuestro estudio y el trabajo realizado por Yordanova *et al.* (2017) indican que el grado de acoplamiento de los HS rápidos en el *upstate* de las OLs no solo depende de aspectos cuantitativos relacionados con el nivel de activación de las regiones implicadas en la adquisición de un aprendizaje, sino también de la calidad de las representaciones codificadas durante dicha sesión de aprendizaje.

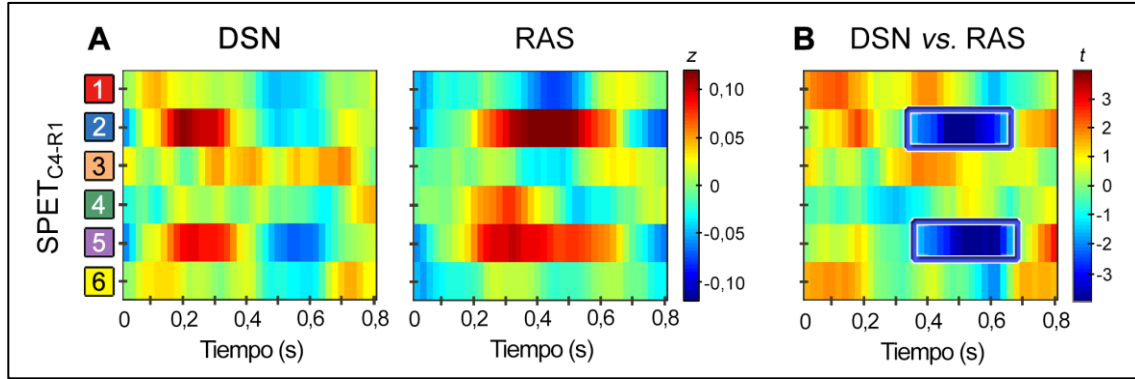
#### **4.6. Efecto de la restricción aguda de sueño sobre la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación durante la fase de prueba**

A continuación, se evaluó si los dos grupos de participantes reactivaban información similar mientras realizaban la prueba basada en el reconocimiento de los emparejamientos tras haber dormido durante 8 h en el laboratorio. Para ello, se computó la SPET entre la actividad EEG asociada a la 4ª presentación de los emparejamientos presentados en la fase de adquisición y la actividad EEG asociada a la 1ª presentación de los mismos emparejamientos durante la fase de prueba ( $SPET_{C4-R1}$ ).

Los dos grupos mostraron una  $SPET_{C4-R1}$  similar para los emparejamientos correctamente reconocidos en la fase de prueba en la ROI frontal derecha y en la ROI parieto-occipital izquierda entre 150-350 ms (Figura 15A-B). Sin embargo, el grupo RAS restableció este patrón de actividad durante un período más largo, extendiéndose hasta aproximadamente los 700 ms (Figura 15C). De hecho, el análisis reveló un efecto principal del grupo en las mismas ROIs mencionadas anteriormente entre 340-700 ms ( $t_{25} = -4,98$ ;  $p_{corregida} = 0,007$ ;  $d_{ajustada} [IC_{0,95}] = -1,752 [-1,750 -1,753]$ ,  $CL = 1,28$ ). La diferencia media estandarizada fue de gran magnitud, de modo que la probabilidad de que un individuo del grupo RAS mostrara una  $SPET_{C4-R1}$  mayor que un participante del grupo DSN fue de casi el 90%.

El hecho de que los dos grupos hayan mostrado durante la tarea de reconocimiento, concretamente durante la 1ª presentación de los emparejamientos, un patrón similar de reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación sugiere que ambos están utilizando una estrategia similar. Como la  $SPET_{C4-R1}$  fue computada para los emparejamientos presentados de la misma forma en la fase de adquisición y en la fase de prueba, es probable que ambos grupos estén reactivando información específica relevante para el reconocimiento de dichos emparejamientos. Este hecho explicaría, al menos en parte, la ausencia de diferencias de grupo en lo que respecta a los índices de precisión durante la fase de prueba. Sin embargo, la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación duró mucho más tiempo en el grupo RAS que en el grupo DSN. Es muy posible que esta diferencia fuera sustancial para reconocer de forma correcta unas memorias que se codificaron inicialmente con una peor calidad. Y

quizás este hecho explique los TR más largos observados en el grupo RAS con respecto al grupo DSN.



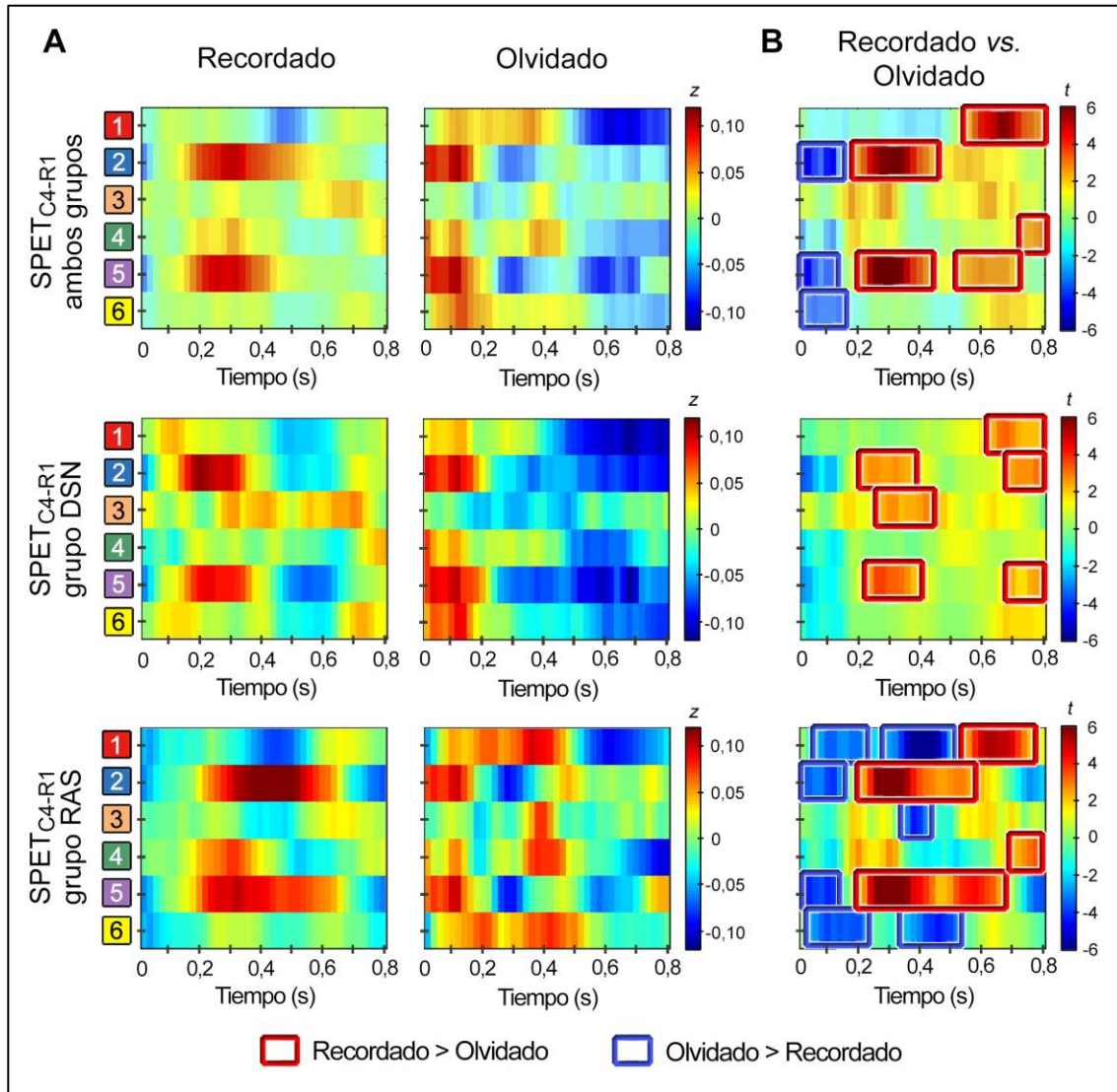
**Figura 15. Efecto de la restricción de sueño sobre la  $SPET_{C4-R1}$ .** A) Valor medio de la  $SPET_{C4-R1}$  computada entre la actividad EEG asociada a la 4ª presentación en la fase de adquisición y la actividad EEG asociada a la 1ª presentación del mismo emparejamiento en la fase de prueba para los grupos DSN y RAS. El eje x representa el tiempo, y el eje y las ROIs donde se computó la  $SPET_{C4-R1}$ . B) Valores del estadístico  $t$  para las diferencias de grupo. Los recuadros indican el intervalo espacio-temporal donde fue posible rechazar la hipótesis nula. El color azul de los recuadros indica que el grupo RAS mostró una  $SPET_{C4-R1}$  de mayor magnitud que el grupo DSN.

Desafortunadamente, la  $SPET_{C4-R1}$  no se puede computar para cada ensayo por separado, por lo que no es posible correlacionar esta medida con los TR. Por el contrario, sí es posible evaluar la contribución de los patrones de reactivación mostrados por los dos grupos al reconocimiento exitoso.

La Figura 16A muestra los patrones EEG asociados a la codificación que se reactivaron durante la fase de prueba (*i.e.*,  $SPET_{C4-R1}$ ) en ambos grupos (panel superior) y en cada grupo por separado (paneles medio e inferior). La Figura 16B muestra los intervalos de tiempo y las ROIs en los que el restablecimiento de dichos patrones contribuyó a aumentar la probabilidad de aciertos o fallos en el reconocimiento de los emparejamientos. La reactivación de los patrones frontoparietales a los que nos hemos referido más arriba (Figura 15B) contribuyeron a la memoria de reconocimiento entre 200-450 ms en ambos grupos ( $t_{25} = 7,62$ ;  $p_{corregida} = 0,004$ ;  $d_{rm\ ajustada} [IC_{0,95}] = 1,15 [0,74, 1,54]$ ;  $CL = 0,82$ ). Un patrón espacial algo diferente (ROIs frontoparietales en el hemisferio izquierdo) reactivado entre 520-800 ms también contribuyó al mismo fin ( $t_{25}$

= 11,04;  $p_{\text{corregida}} = 0,01$ ;  $d_{\text{rm ajustada}} [IC_{0,95}] = 0,93 [0,26 \ 1,50]$ ;  $CL = 0,66$ ). Estos datos apoyan la hipótesis de que la reactivación favorece la recuperación de información específica que es útil para el reconocimiento exitoso.

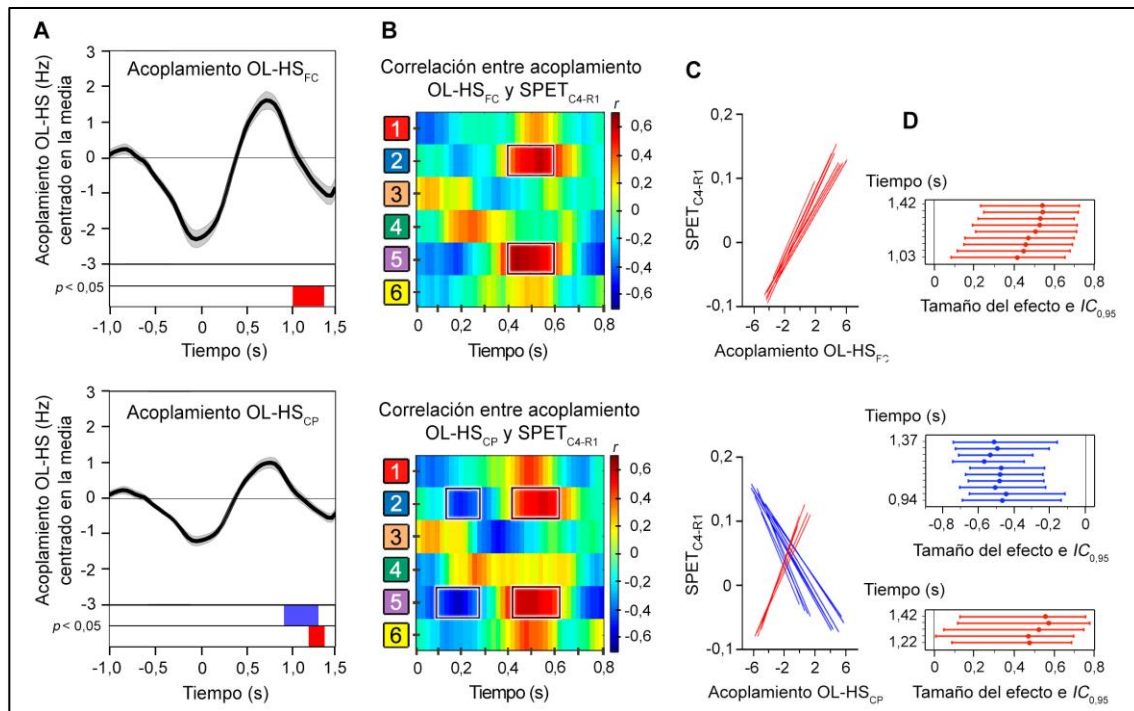
Los análisis realizados en cada grupo por separado nos permitieron confirmar que la reactivación adicional realizada por el grupo RAS también contribuyó a la memoria de reconocimiento. De hecho, el grupo RAS mostró una  $SPET_{C4-R1}$  de mayor magnitud para los emparejamientos recordados que para los olvidados en la ROI frontal derecha y en la parieto-occipital izquierda en un intervalo de tiempo que se extendió desde los 200 hasta los 700 ms ( $t_{12} = 9,78$ ;  $p_{\text{corregida}} = 0,0002$ ;  $d_{\text{rm ajustada}} [IC_{0,95}] = 3,40 [2,19 \ 5,04]$ ;  $CL = 2,46$ ). Cabe igualmente destacar que únicamente en este grupo la reactivación del mismo patrón en intervalos excesivamente tempranos (0-200 ms) y la reactivación de patrones en regiones del hemisferio contrario en los primeros 550 ms contribuyó a aumentar los fallos en el reconocimiento ( $t_{12} = -6,96$ ;  $p_{\text{corregida}} = 0,017$ ;  $d_{\text{rm ajustada}} [IC_{0,95}] = -1,46 [-2,21 \ -0,77]$ ;  $CL = 1,16$ ). Estos resultados sugieren que los participantes sometidos a una restricción aguda de sueño en la noche previa a la adquisición de la memoria necesitan reactivar un patrón neural específico por más tiempo que el grupo DSN para poder llevar a cabo un reconocimiento exitoso, incluso después de haber dormido normalmente durante toda una noche.



**Figura 16. Contribución de la SPET<sub>C4-R1</sub> a la memoria de reconocimiento.** A) Valor medio de SPET<sub>C4-R1</sub> (transformación  $z$  de Fisher) asociados a los emparejamientos recordados durante la fase de prueba en ambos grupos combinados y en cada grupo por separado. El eje  $x$  representa el tiempo, y el eje  $y$  las ROIs representadas en la Figura 9. B) Lo mismo que en A para los emparejamientos olvidados. C) Valor del estadístico  $t$  para las diferencias entre emparejamientos recordados y olvidados en ambos grupos y en cada grupo por separado. Los recuadros indican los intervalos espacio-temporales donde fue posible rechazar la hipótesis nula para las diferencias entre condiciones en ambos grupos combinados y en cada grupo por separado.

#### 4.7. Relación entre el acoplamiento OL-HS y la reactivación de patrones EEG asociados a la codificación durante la fase de prueba

El siguiente paso fue evaluar si los procesos de consolidación que operan durante el sueño, indexados por el grado de acoplamiento entre OLs y HS, guardan relación con la reactivación de patrones EEG asociados a la codificación durante el reconocimiento de los emparejamientos. Los resultados se ilustran en la Figura 17.



**Figura 17. Relación entre el acoplamiento OL-HS durante la noche siguiente a la fase de adquisición y la SPET<sub>C4-R1</sub>.** A) Histograma de correlación de eventos entre las OLs y los HS<sub>FC</sub> y entre las OLs y los HS<sub>CP</sub> para los dos grupos de participantes combinados. La sombra alrededor de la línea indica la DE. B) Coeficientes de regresión resultantes de la correlación entre la SPET<sub>C4-R1</sub> y el acoplamiento entre OLs y HS<sub>FC</sub> (arriba) y HS<sub>CP</sub> (abajo). El eje x representa el tiempo, y el eje y las ROIs representadas en la Figura 9. El recuadro rojo indica el intervalo espacio-temporal donde fue posible rechazar la hipótesis nula para la correlación positiva y el recuadro azul lo mismo para la correlación negativa. C) Pendientes de regresión para cada uno de los bins de tiempo representados en B. D) Tamaños del efecto e  $IC_{0.95}$  para cada uno de los bins de tiempo representados en B.

Los resultados indicaron que el agrupamiento de los HS en la transición del *upstate* al *downstate* de las OLs (Figura 17A) correlacionó con la  $SPET_{C4-R1}$  para los emparejamientos reconocidos de forma correcta, pero no para los emparejamientos que fueron olvidados (Figura 17B-D). Esta correlación fue positiva en la ROI frontal derecha y parieto-occipital izquierda entre 400-600 ms tanto para los  $HS_{FC}$  ( $0,44 < r_{25} < 0,60$ ;  $0,02 < p < 0,0007$ ) como para los  $HS_{CP}$  ( $0,48 < r_{25} < 0,60$ ;  $0,01 < p < 0,001$ ). Para estos últimos, también se encontró una correlación negativa en las mismas ROIs pero en un intervalo más temprano, entre 100-300 ms ( $-0,57 < r_{25} < -0,43$ ;  $0,023 < p < 0,001$ ). A pesar de que ninguno de estos resultados sobrevivió a la corrección por múltiples comparaciones, en todos los casos fue posible rechazar la hipótesis nula sobre la base de los  $IC_{0,95}$  para los tamaños de los efectos representados en la Figura 17D ( $HS_{FC}$  para el conglomerado positivo:  $0,01 < [IC_{0,95}] < 0,74$ ;  $HS_{CP}$  para el conglomerado positivo:  $0,09 < [IC_{0,95}] < 0,79$ ;  $HS_{CP}$  para el conglomerado negativo:  $-0,73 < [IC_{0,95}] < -0,11$ ).

Es importante subrayar que el intervalo espacio-temporal donde emergió la correlación positiva coincide con el intervalo adicional requerido por el grupo RAS para el reconocimiento exitoso de los emparejamientos. Los resultados expuestos hasta el momento apuntan a que la restricción aguda de sueño tiene un efecto negativo sobre la calidad de la codificación que, sin embargo, no se ve traducida en una pérdida absoluta de precisión en la memoria de reconocimiento. Ello se debió, muy probablemente, a que los participantes privados de sueño fueron capaces de mantener la información reactivada por más tiempo que los controles, una capacidad que, por otra parte, estuvo asociada al grado de acoplamiento OL-HS que se produjo en el sueño de la noche previa.

En resumen, estos resultados sugieren que la probabilidad para reconocer correcta o incorrectamente un emparejamiento durante la tarea de reconocimiento depende de la interacción entre la calidad de la codificación, el grado de acoplamiento OL-HS y la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación. Para confirmar esta hipótesis, hemos realizado una regresión logística aplicando un modelo lineal generalizado mixto con la memoria de reconocimiento como variable dependiente. Los resultados se presentan en el siguiente apartado.

#### 4.8. Contribución de la calidad de la codificación, del acoplamiento OL-HS y de la reactivación de patrones EEG asociados a la codificación a la memoria de reconocimiento

A continuación, evaluamos el efecto de la triple interacción entre la calidad de la codificación, los procesos de consolidación durante el sueño y la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación sobre la memoria de reconocimiento. Los modelos mixtos generalizados que incluyeron el término de triple interacción realizados tanto para la  $SPET_{C4-R1}$  computada en el intervalo temprano (150-350 ms) como para la  $SPET_{C4-R1}$  computada en el intervalo más tardío (350-700 ms) mostraron los valores de AIC más bajos y el log-likelihood más alto (intervalo temprano:  $N = 1620$ ;  $AIC = 1591,8$ ;  $\log\text{-likelihood} = -785,9$ ; intervalo tardío:  $N = 1620$ ;  $AIC = 1586,9$ ;  $\log\text{-likelihood} = -784,4$ ). El factor de inflación de la varianza estuvo por debajo de 1,52, lo que indica un bajo nivel de multicolinealidad.

Los resultados indicaron que el reconocimiento exitoso de los emparejamientos estuvo asociado a una  $SPET_{C3-C4}$  alta ( $OR = 2,56 [1,85\ 2,75]$ ;  $p < 10^{-16}$ ) y a una  $SPET_{C4-R1}$  también alta, tanto en el intervalo temprano ( $OR = 7,79 [6,16\ 9,84]$ ;  $p < 10^{-16}$ ) como tardío ( $OR = 5,21 [4,12\ 6,57]$ ,  $p < 10^{-16}$ ). El grado de acoplamiento OL-HS también aumentó la probabilidad de reconocer un emparejamiento, pero esta asociación estuvo moderada por la calidad de la codificación inicial y por la reactivación de los patrones asociados a dicha codificación durante la fase de prueba, tal como se extrae del efecto de triple interacción (intervalo temprano:  $OR = 0,73 [0,55\ 0,96]$ ;  $p = 0,02$ ; intervalo tardío:  $OR = 1,60 [1,08\ 2,39]$ ;  $p = 0,02$ ). Cuando la calidad de la codificación fue baja, como en el caso del grupo RAS, el grado de acoplamiento OL-HS aumentó la probabilidad de reconocimiento exitoso siempre y cuando los participantes consiguieran reactivar los patrones neurales que se presentaron durante la codificación (tanto en el intervalo temprano como tardío). Sin embargo, cuando la calidad de la codificación inicial fue buena, como en el caso del grupo DSN, la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación contribuyó a aumentar la memoria de reconocimiento independientemente del grado de acoplamiento OL-HS. Estos resultados claramente apoyan la hipótesis de que los procesos de consolidación que operan durante el sueño benefician fundamentalmente a las memorias que han sido codificadas de forma más débil.



#### 4.9. Efecto del recuerdo intencionado repetitivo sobre los índices conductuales de la memoria de reconocimiento

Los resultados evaluados hasta aquí sugieren que la restricción aguda de sueño disminuye la calidad de la codificación sin que se vea afectada la memoria de reconocimiento debido a los procesos de reactivación facilitados por el sueño y por el recuerdo intencionado. Se desconoce, sin embargo, si una vez iniciados los procesos de consolidación durante el sueño el recuerdo intencionado reiterado puede producir transformaciones adicionales a corto plazo que puedan ser evidenciadas a nivel neural y/o comportamental; y si dichas transformaciones están condicionadas por la calidad de la codificación inicial y por los susodichos procesos de consolidación que actúan durante el sueño.

A fin de abordar esta cuestión, primero evaluamos a nivel conductual la hipótesis de que el recuerdo intencionado reiterado contribuye a facilitar el solapamiento de las nuevas memorias con otras pre-existentes, facilitando su generalizabilidad. Esta hipótesis podría traducirse en un acortamiento en los TR. De hecho, cuanto más generalizable es una representación mnemónica menor suele ser la cantidad de detalles que proporciona y más rápidas las decisiones que provocan (Redish & Mizumori, 2015). En línea con esta conjetura, el modelo aditivo con dos predictores (grupo y repeticiones) proporcionó un mejor ajuste de los datos que el modelo que solo incluyó el intercepto como factor fijo ( $\chi^2(4) = 83,6; p < 10^{-15}$ ). La Figura 18A ilustra la disminución progresiva de los TR para los emparejamientos recordados conforme aumentó el número de presentaciones en la fase de prueba ( $F_{3,78} = 49,9; p < 10^{-15}$ ). El análisis del modelo indicó una reducción en los TR desde la R1 a la R2 ( $\beta = -18,34; p < 0,001$ ) y de la R2 a la R3 ( $\beta = -16,6; p < 0,001$ ), pero no hubo ganancias adicionales tras la R4 ( $\beta = 5,93; p = 0,2$ ). El que no fuera posible rechazar la hipótesis nula para el grupo (Tabla 6, modelo 1) sugiere que la posible generalizabilidad del trazado de memoria fue similar en los dos grupos, mientras que el hecho de que no hubiera interacción (Tabla 6, modelo 2) sugiere que dicho efecto fue independiente del tiempo total de sueño en la noche previa a la fase de adquisición.

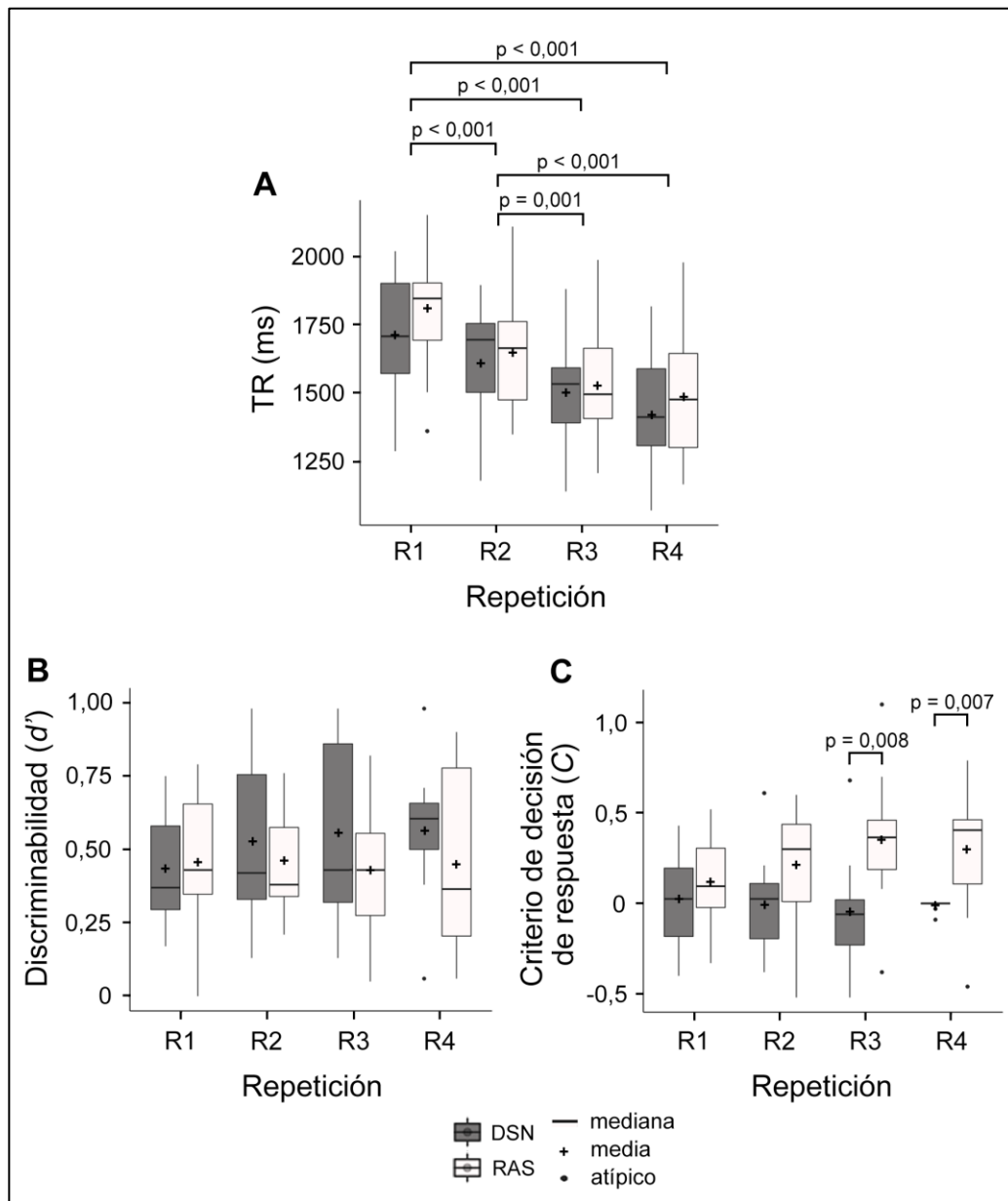
No obstante, el acortamiento de los TR con las repeticiones también podría ser el resultado de las mejoras que se producen en la respuesta motora, que no cognitiva, como resultado de la práctica repetida. Ambas hipótesis no son excluyentes, por lo que deberemos esperar a analizar los correlatos neurales para determinar si la hipótesis de la generalización se confirma.

**Tabla 6.** Modelos mixtos con interceptos aleatorios para evaluar el efecto de las repeticiones y el grupo en los TR.

Predictores	Modelo 1			Modelo 2		
	$\beta$	IC	p	$\beta$	IC	p
(Intercepto)	322,81	307,99 – 337,64	<0,001	325,20	309,84 – 340,56	<0,001
R2	-18,34	-25,67 – -11,02	<0,001	-21,87	-31,73 – -12,01	<0,001
R3	-33,68	-41,01 – -26,36	<0,001	-38,03	-47,88 – -28,17	<0,001
R4	-42,29	-49,62 – -34,97	<0,001	-43,96	-53,82 – -34,10	<0,001
Grupo	-7,71	-28,50 – 13,09	0,467	-12,87	-35,49 – 9,74	0,265
R2*Grupo				7,64	-6,87 – 22,15	0,302
R3*Grupo				9,41	-5,10 – 23,92	0,204
R4*Grupo				3,61	-10,90 – 18,12	0,626
<b>Efectos aleatorios</b>						
AIC	922,20			926,28		
$\sigma^2$	181,48			177,07		
$\tau_{00, Participante}$	681,97			683,07		
N Participante	26			26		
CCI Participante	0,79			0,79		
Observaciones	104			104		
$R^2 / \Omega_0^2$	0,242 / 0,841			0,245 / 0,845		

Categoría de referencia para la repetición (R1) / Categoría de referencia para el grupo (DSN)

AIC: Criterio de información de Akaike; IC: intervalo de confianza; CCI: coeficiente de correlación intraclase



**Figura 18. Efecto de la restricción de sueño y del recuerdo intencionado reiterado sobre la memoria de reconocimiento.** A) Diagrama de barras para los TR ante los emparejamientos que fueron reconocidos de forma correcta para cada una de las repeticiones en el grupo DSN y RAS. B) Lo mismo que en A para el índice de discriminabilidad  $d'$ . C) Lo mismo que en A para el criterio de decisión de respuesta C. La longitud de la barra indica el rango intercuartil que representa el 50% de los casos. Los bigotes de las barras se extienden hasta 1,5 veces el rango intercuartil. Las líneas horizontales representan las medianas, las cruces representan las medias, y los puntos negros los valores atípicos. Nótese que únicamente fue posible rechazar la hipótesis nula para el efecto principal de la repetición sobre los TR y para el efecto de interacción sobre el criterio de decisión C.

En apartados anteriores hemos visto que el grupo DSN se benefició más que el grupo RAS de la repetición de los emparejamientos durante la fase de adquisición, llegando a mostrar una codificación de mayor calidad al final de la sesión. Es posible, por tanto, que el grupo DSN también se beneficie en mayor grado que el grupo RAS del recuerdo intencionado reiterado durante la fase de prueba. En el corto plazo, dicho beneficio se espera que se traduzca en una mayor generalización, pero también en una mayor diferenciación. Dado que los cambios en los TR fueron similares en los dos grupos, es posible que dicho beneficio se relacione con la diferenciación y se traduzca en un progresivo aumento del índice de discriminabilidad  $d'$  con las sucesivas repeticiones. Sin embargo, los datos no son consistentes con dicha hipótesis. De hecho, no fue posible rechazar la hipótesis nula ni para el efecto principal del grupo (Tabla 7, modelo 1) ni para el efecto de interacción (Tabla 7, modelo 2). Los resultados asociados al índice de discriminabilidad  $d'$  se muestran en la Figura 18B.

**Tabla 7.** Modelos mixtos con interceptos aleatorios para evaluar el efecto de las repeticiones y el grupo en el índice de discriminabilidad  $d'$ .

Predictores	Modelo 1			Modelo 2		
	$\beta$	IC	$p$	$\beta$	IC	$p$
(Intercepto)	-0,02	-0,51 – 0,46	0,922	-0,12	-0,64 – 0,39	0,639
R2	0,07	-0,27 – 0,42	0,671	0,20	-0,26 – 0,66	0,397
R3	0,11	-0,23 – 0,45	0,532	0,23	-0,24 – 0,69	0,336
R4	-0,06	-0,40 – 0,28	0,742	0,10	-0,36 – 0,56	0,675
Grupo	-0,02	-0,66 – 0,62	0,961	0,20	-0,56 – 0,97	0,606
R2*Grupo				-0,27	-0,95 – 0,41	0,432
R3*Grupo				-0,26	-0,94 – 0,43	0,462
R4*Grupo				-0,34	-1,02 – 0,34	0,330
<b>Efectos aleatorios</b>						
AIC	262,16			268,06		
$\sigma^2$	0,40			0,39		
$\tau_{00, Participante}$	0,59			0,59		
N Participante	26			26		
CCI Participante	0,60			0,60		
Observaciones	104			104		
$R^2 / \Omega_0^2$	0,004 / 0,601			0,009 / 0,606		

Categoría de referencia para la repetición (R1) / Categoría de referencia para el grupo (DSN)

AIC: Criterio de información de Akaike; IC: intervalo de confianza; CCI: coeficiente de correlación intraclase

Adicionalmente, evaluamos la posibilidad de que el recuerdo intencionado hubiera producido cambios en los criterios de decisión y que dichos cambios pudieran estar a su vez condicionados por la calidad de la codificación inicial asociada al tiempo de sueño en la noche previa y, por ende, diferir entre los dos grupos. En consonancia con este planteamiento, el modelo de efectos mixtos para el criterio de decisión C mostró un efecto principal del grupo ( $F_{3,78} = 45,6$ ;  $p < 10^{-15}$ ; Tabla 8, modelo 1) y un efecto de interacción ( $F_{3,78} = 3,2$ ;  $p = 0,029$ ; Tabla 8, modelo 2). En particular, y como queda ilustrado en la Figura 18C, el grupo RAS se mostró más conservador que el grupo DSN y presentó una mayor tendencia a responder que los personajes famosos no se habían presentado juntos cuando realmente habían aparecido emparejados en la fase de adquisición. Estas diferencias fueron especialmente notables tras R3 ( $\beta = 0,90$ ;  $p = 0,008$ ) y R4 ( $\beta = 0,92$ ;  $p = 0,007$ ) en comparación con R1 pero no con R2.

**Tabla 8.** Modelos mixtos con interceptos aleatorios para evaluar el efecto de las repeticiones y el grupo en el criterio de decisión de respuesta C.

Predictores	Modelo 1			Modelo 2		
	$\beta$	IC	$p$	$\beta$	IC	$p$
(Intercepto)	-1,37	-1,67 – -1,07	<b>&lt;0,001</b>	-1,10	-1,45 – -0,75	<b>&lt;0,001</b>
R2	1,62	1,27 – 1,98	<b>&lt;0,001</b>	1,37	0,91 – 1,82	<b>&lt;0,001</b>
R3	1,60	1,25 – 1,95	<b>&lt;0,001</b>	1,18	0,73 – 1,64	<b>&lt;0,001</b>
R4	1,59	1,24 – 1,94	<b>&lt;0,001</b>	1,16	0,71 – 1,62	<b>&lt;0,001</b>
Grupo	0,37	0,06 – 0,67	<b>0,018</b>	-0,23	-0,74 – 0,28	0,384
R2*Grupo				0,56	-0,11 – 1,23	0,102
R3*Grupo				0,90	0,23 – 1,57	<b>0,008</b>
R4*Grupo				0,92	0,25 – 1,59	<b>0,007</b>
<b>Efectos aleatorios</b>						
AIC	230			227		
$\sigma^2$	0,42			0,38		
$\tau_{00, Participante}$	0,05			0,06		
N Participante	26			26		
CCI Participante	0,60			0,60		
Observations	104			104		
$R^2 / \Omega_0^2$	0,524 / 0,574			0,559 / 0,620		

Categoría de referencia para la repetición (R1) / Categoría de referencia para el grupo (DSN)

AIC: Criterio de información de Akaike; IC: intervalo de confianza; CCI: coeficiente de correlación intraclase

#### *4.9. Regresión de la calidad de la codificación, el acoplamiento OL-HS y el recuerdo intencionado repetitivo sobre la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación*

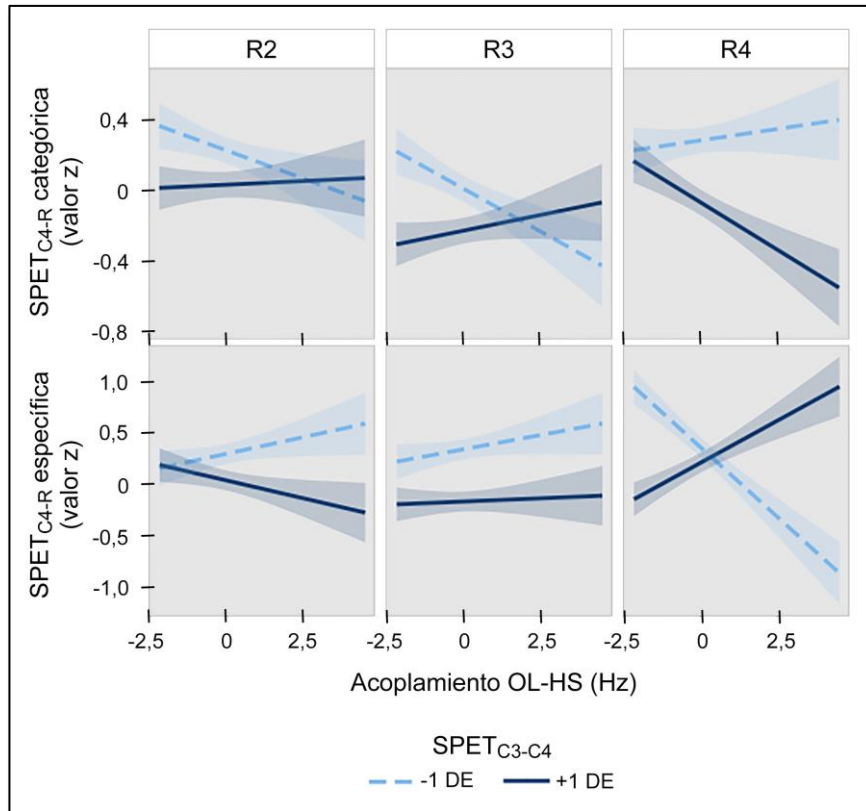
---

La tendencia más conservadora mostrada por el grupo RAS con cada repetición sugiere que el reconocimiento fue cada vez más dependiente de los aspectos contextuales

(Rotello *et al.*, 2006). Quizás porque la presentación reiterada y alternante de los emparejamientos reorganizados con los emparejamientos intactos constituya una dificultad mayor para el grupo RAS que para el grupo DSN como resultado de la peor calidad de la codificación inicial. Adicionalmente, es posible que el sesgo presentado por el grupo RAS durante la fase de prueba se deba a la reactivación de representaciones que contienen menos detalles específicos relevantes para la diferenciación, como resultado de una codificación más débil. Esto, a su vez, podría contribuir a reducir la excitabilidad neural de las regiones corticales que son claves para la discriminación de dichos emparejamientos (Muckli & Petro, 2017), provocando cambios en el criterio de decisión de una repetición a otra. En consonancia con esta interpretación, existen evidencias de que los cambios introducidos en la codificación sensorial, ya sea mediante modificaciones en los parámetros que definen la tarea o mediante la estimulación optogenética del nivel de excitabilidad neural de las áreas sensoriales primarias, pueden alterar el criterio de decisión de respuesta sin afectar la discriminabilidad (Jin & Glickfeld, 2019), como ocurrió en el presente estudio.

#### **4.10. Regresión de la calidad de la codificación, el acoplamiento OL-HS y el recuerdo intencionado repetitivo sobre la reactivación de los patrones EEG asociados a la codificación**

A fin de evaluar si la calidad de la codificación actuaba como una variable moderadora del efecto combinado de los procesos de consolidación que operan durante el sueño y el recuerdo reiterado sobre la reactivación de los patrones neurales asociados a la codificación se aplicó un modelo de efectos mixtos de cuatro pasos. Este modelo se aplicó tanto para la SPET<sub>C4-R</sub> específica como para la categórica, incluyendo como factores fijos la calidad de la codificación (SPET<sub>C3-C4</sub>), el acoplamiento OL-HS (promediando electrodos frontocentrales y centroparietales), las repeticiones de los emparejamientos (R2, R3, R4) y las diferentes ROIs (Figura 9).



**Figura 19. Relación entre la  $SPET_{C3-C4}$  y el acoplamiento OL-HS sobre la  $SPET_{C4-R}$  para las diferentes repeticiones del emparejamiento durante la fase de prueba.** Asociación del acoplamiento OL-HS con la  $SPET_{C4-R}$  categórica (panel superior) y específica (panel inferior) para las diferentes repeticiones del emparejamiento durante la fase de prueba a 1 desviación estándar (DE) por debajo y por encima de la media de la  $SPET_{C3-C4}$  en la ROI fronto-central izquierda (ROI 1 en la Figura 9), donde el efecto de interacción cuádruple fue más notable. Las bandas sombreadas representan los intervalos de confianza al 95% para los valores ajustados.

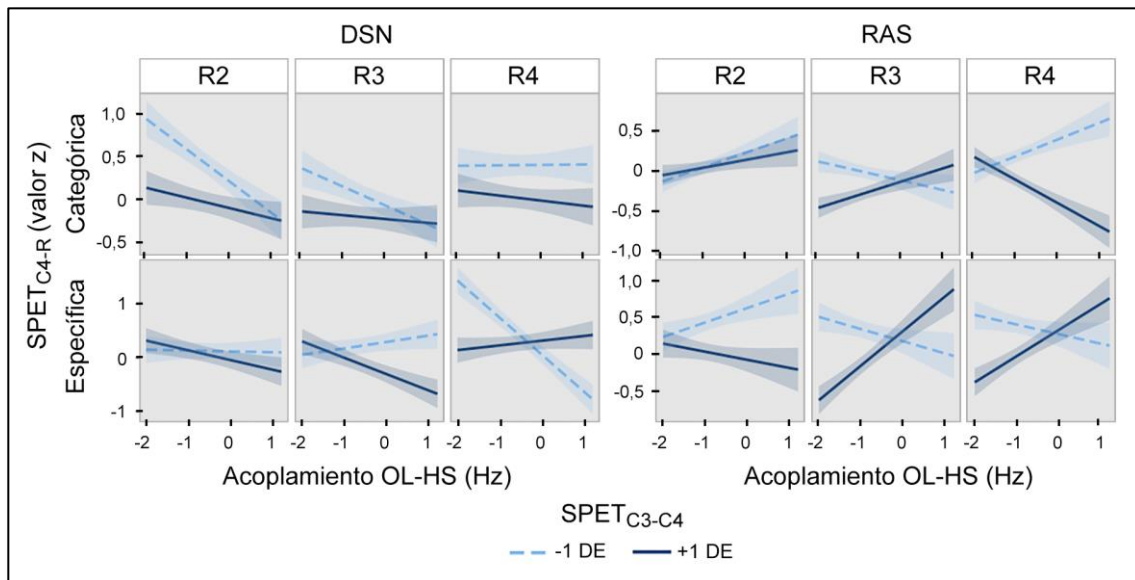
Las Tablas S1 y S2 incluidas en el material suplementario del Anexo II muestran los resultados de los modelos 1-4 para la similitud categórica y específica, respectivamente. La inclusión de la cuádruple interacción (modelo 4) proporcionó un mejor ajuste de los datos en comparación con el modelo que incluyó las triples interacciones (modelo 3), tanto para la similitud categórica ( $\chi^2(10) = 28,7$ ;  $p < 0,001$ ) como específica ( $\chi^2(10) = 247,5$ ;  $p < 10^{-15}$ ). La Figura 19 muestra el efecto de la cuádruple interacción en la ROI 1 a una desviación estándar por debajo y por encima de la media de la  $SPET_{C3-C4}$  sobre la  $SPET_{C4-R}$ .

El recuerdo reiterado invirtió la dirección de la asociación entre el acoplamiento OL-HS y la SPET<sub>C4-R</sub> categórica. La relación pasó de ser negativa en R2 y R3 para las memorias más débiles (-1 DE) a ser positiva en R4, mientras que para las memorias más fuertes (+1 DE) ocurrió justo lo contrario (Figura 19, panel superior). Esta asociación fue particularmente fuerte en la ROI 1 cuando se comparó con la ROI 5 ( $\beta = 1,02$ ;  $p < 0,001$ ). El patrón inverso de resultados se observó para la asociación entre el acoplamiento OL-HS y la SPET<sub>C4-R</sub> específica (Figura 19, panel inferior), sobre todo al comparar la ROI 1 con la ROI 4 ( $\beta = -2,61$ ;  $p < 0,001$ ).

Finalmente, para evaluar si la asociación observada en la ROI 1 difería entre los dos grupos se aplicó otro modelo de cuatro pasos. Tal como se muestra en las tablas S3 y S4 incluidas en el material suplementario del Anexo II, pudo rechazarse la hipótesis nula para la cuádruple interacción para las dos variables dependientes. El modelo 4 mostró un mejor ajuste de los datos que el modelo 3 para la SPET<sub>C4-R</sub> categórica ( $\chi^2(4) = 21,9$ ;  $p = 0,0002$ ) y para la SPET<sub>C4-R</sub> específica ( $\chi^2(4) = 72,8$ ;  $p < 10^{-15}$ ). La Figura 20 muestra los resultados derivados de la cuádruple interacción para la similitud categórica (panel superior) y específica (panel inferior). En comparación con el grupo DSN, el grupo RAS mostró una relación positiva de mayor magnitud entre el acoplamiento OL-HS y la SPET<sub>C4-R</sub> categórica al comparar R3 con R4, pero solo para las memorias que fueron codificadas más débilmente ( $\beta = -1,08$ ;  $p = 0,003$ ). Por el contrario, la asociación con la SPET<sub>C4-R</sub> específica fue más positiva en el grupo RAS que en el grupo DSN para las memorias más fuertes ( $\beta = -3,12$ ;  $p < 0,001$ ).



Tomados en su conjunto, estos resultados indican que el efecto combinado de los procesos de consolidación que operan durante el sueño y durante el recuerdo reiterado favorece la reactivación de los aspectos categóricos de las memorias más débiles en detrimento de los aspectos más específicos, fomentando la generalizabilidad de dichos trazados a costa de la diferenciación. Mientras que en el caso de las memorias más fuertes ocurre justo lo contrario, una mayor probabilidad de diferenciación en detrimento de la integración con otras memorias. En consonancia con las evidencias que indican que el sueño favorece las memorias más débiles sobre las más fuertes, el efecto moderador de la calidad de la codificación sobre la interacción entre el sueño y el recuerdo reiterado fue más notable en el grupo RAS que en el grupo DSN.



**Figura 20. Relación entre la  $SPET_{C3-C4}$  y el acoplamiento OL-HS sobre la  $SPET_{C4-R}$  para las diferentes repeticiones del emparejamiento durante la fase de prueba en el grupo DSN y RAS.** Asociación del acoplamiento OL-HS con la  $SPET_{C4-R}$  categórica (panel superior) y específica (panel inferior) para las diferentes repeticiones del emparejamiento durante la fase de prueba a 1 desviación estándar (DE) por debajo y por encima de la media de la  $SPET_{C3-C4}$  en la ROI fronto-central izquierda (ROI 1 en la Figura 9) para el grupo DSN y RAS. Las bandas sombreadas representan los intervalos de confianza al 95% para los valores ajustados.



## ***5. DISCUSIÓN GENERAL***

---



## 5. Discusión general

El presente trabajo de Tesis Doctoral se diseñó con un doble objetivo. En primer lugar, determinar si una restricción aguda de sueño tiene algún impacto sobre la calidad de la codificación de nuevas memorias. Y en segundo lugar, evaluar si la calidad de la codificación influye en las transformaciones que sufre la memoria durante el sueño y durante el proceso intencionado de recordar. En relación con el primero de los objetivos, los resultados mostraron que demorar unas horas el momento de acostarse afecta negativamente la calidad de la codificación. En concreto, dificulta la capacidad para mantener la estabilidad de las representaciones neurales a lo largo de la fase de aprendizaje. Los resultados también mostraron que la calidad de la información codificada durante la fase de aprendizaje condiciona las transformaciones que sufren las representaciones neurales cuando son reactivadas de forma espontánea durante el sueño y de forma activa a través del recuerdo intencionado. En particular, el sueño y el recuerdo reiterado favorecieron el mantenimiento de las propiedades distintivas de la memoria cuando la calidad de la codificación fue buena, es decir, cuando la nueva representación neural de la memoria incluyó detalles suficientes para distinguirla de otras memorias similares. Por el contrario, cuando la codificación se vio dificultada debido a la restricción aguda de sueño, los procesos de consolidación tendieron a promover la integración de la nueva memoria con otras memorias similares a través de la categorización.

Para evaluar la calidad de la codificación se aplicó una aproximación analítica que cuantifica el grado de similitud entre los patrones EEG generados por las caras de personas famosas que se presentaron combinadamente en repetidas ocasiones durante la fase de adquisición, mientras los participantes realizaban una tarea de congruencia semántica y perceptiva. Este enfoque asume que el trazado de memoria representado en los diferentes engramas hipocámpico-corticales será de mayor calidad, es decir, contendrá un mayor número de detalles perceptivos, semánticos y contextuales, cuanto más estables sean dichos patrones de actividad EEG a través de los ensayos. Esta hipótesis se ve respaldada por evidencias que demuestran que solo la actividad generada por las células que forman parte de un engrama (e.g., área CA1 del hipocampo) permanece estable (*i.e.*, alta similitud) a lo largo de la sesión de aprendizaje, así como durante el sueño y las sesiones de recuperación post-aprendizaje (Ghandour

*et al.*, 2019). Al igual que la estabilidad del engrama favorece el recuerdo del evento episódico, la consistencia de los patrones de actividad neural entre los ensayos de la fase de aprendizaje también facilita que esas memorias sean posteriormente recordadas (Xue *et al.*, 2010; LaRocque *et al.*, 2013; Lu *et al.*, 2015; Xiao *et al.*, 2016; Sols *et al.*, 2017; Feng *et al.*, 2019; Bruett *et al.*, 2020). En consonancia con estos resultados, la similitud entre los patrones EEG generados por los emparejamientos presentados de forma repetida durante la fase de aprendizaje fue de mayor magnitud para aquellos que posteriormente fueron correctamente reconocidos que para los que no lo fueron (Figura 12). Por lo tanto, la similitud hallada entre los patrones de actividad EEG producidos por la repetición de emparejamientos de personas famosas durante la fase de aprendizaje puede considerarse un índice de la calidad de la codificación específica de dichos emparejamientos.

El éxito de la codificación de una nueva memoria depende de muchos factores. Parte de ellos tienen que ver con las características del evento a codificar como el conocimiento previo que se tenga sobre el mismo (van Kesteren *et al.*, 2012; Brod *et al.*, 2013), su contenido emocional (Tyng *et al.*, 2017) y su capacidad para anticipar una acción (Yebra *et al.*, 2019) o una recompensa (Murty & Adcock, 2014). Otros factores, sin embargo, tienen que ver con el estado fisiológico del individuo, tales como el nivel de alerta (Libkuman *et al.*, 1999) y el estado emocional (Tambini *et al.*, 2017b), los cuales también podrían afectar a otros dominios cognitivos que son necesarios para el proceso de codificación como la memoria operativa (Lo *et al.*, 2016) y/o la capacidad para atender a los aspectos que son relevantes (Muzzio *et al.*, 2009) al mismo tiempo que se inhibe los que son distractores (Payne & Sekuler, 2014). A su vez, los factores que definen el estado del individuo pueden verse modulados por el momento del día en el que se lleva a cabo el proceso de codificación (Gerstner & Yin, 2010) y por la cantidad y calidad del sueño en las noches previas (Krause *et al.*, 2017). Aún así, cada vez son más los estudios que relacionan la pérdida de sueño con una peor codificación independientemente de aspectos como la atención, motivación o estatus emocional (Drummond *et al.*, 2000; Yoo *et al.*, 2007; Poh & Chee, 2017a, 2017b). En un principio, se pensó que este efecto podría estar mediado por la pérdida de homeostasis y plasticidad sináptica durante el SOL (Tononi & Cirelli, 2014; Khun *et al.*, 2016). En línea con esta hipótesis, estudios previos han encontrado que la reducción artificial de las OLs

ejerce efectos comparables a los de una noche sin dormir a pesar de que la cantidad total de sueño no se vea afectada (Van Der Werf *et al.*, 2009); mientras que la estimulación de las OLs en un periodo de siesta mejora la calidad de la codificación (Antonenko *et al.*, 2013). Sin embargo, ahora sabemos que los mecanismos generadores de OLs no son los únicos responsables de los cambios en la codificación. De hecho, la privación crónica de sueño debido a un retraso en la hora de acostarse también afecta negativamente a este proceso (Cousins *et al.*, 2018), aún cuando la cantidad total de SOL no se vea afectada como resultado de los procesos homeostáticos (Voderholzer *et al.*, 2011; Ong *et al.*, 2016).

Los resultados del presente estudio sugieren que demorar el momento de acostarse unas horas en una sola noche puede ser suficiente para disminuir la calidad de la codificación al día siguiente, tal como se infiere a partir del menor grado de similitud mostrado por el grupo RAS entre los patrones de actividad EEG asociados a los emparejamientos presentados durante la fase de adquisición (Figura 11). La estabilidad de la representación neural, al menos en el grupo DSN, fue determinante para el reconocimiento posterior, tal como lo sugiere la correlación positiva hallada en este grupo con el índice de discriminabilidad  $d'$  en la prueba de reconocimiento (Figura 12D).

Aún cuando todas las aproximaciones asociadas con una pérdida de sueño parecen tener un efecto negativo sobre la calidad de la codificación, no todas se relacionan con un peor reconocimiento. Permanecer una noche completa sin dormir disminuye drásticamente el reconocimiento, tanto si se evalúa unos minutos después de la fase de aprendizaje (Poh & Chee, 2017b) como si se evalúa dos días más tarde (Yoo *et al.*, 2007). La restricción crónica de sueño durante 5 días consecutivos también disminuye el reconocimiento evaluado tres días más tarde (Cousins *et al.*, 2018). Sin embargo, el protocolo de restricción aguda de sueño aplicado en el presente estudio no tuvo consecuencias evidentes sobre la memoria de reconocimiento evaluada al día siguiente. Aunque es posible que la cantidad total de sueño perdido, de una sola vez o de forma acumulativa, sea el elemento fundamental responsable de las diferencias en la ejecución de la tarea de reconocimiento entre nuestro estudio y los anteriores, también es posible que dichas diferencias se deban, al menos en parte, a que únicamente los participantes de nuestro estudio sabían que serían evaluados en una prueba de memoria al día siguiente. Las evidencias sugieren que las memorias que pueden ser

relevantes en el futuro se benefician más del sueño (Rauchs *et al.*, 2011; Saletin *et al.*, 2011; Wilhelm *et al.*, 2011; Van Dongen *et al.*, 2012; Merhav *et al.*, 2015; Bennion *et al.*, 2016). Luego es posible que los procesos de consolidación que operan durante el sueño siguiente a la adquisición hayan sido más efectivos en nuestro estudio que en los estudios previos (Yoo *et al.*, 2007; Poh & Chee, 2017b; Cousins *et al.*, 2018). Desafortunadamente, los autores de estos estudios no evaluaron los correlatos neurales de dichos procesos durante el sueño, por lo que es difícil determinar el origen de las diferencias comportamentales.

Los participantes que pudieron dormir 8 h en la noche previa a la fase de adquisición y los que solo pudieron dormir la mitad del tiempo mostraron una memoria de reconocimiento comparable porque ambos fueron capaces de reactivar los patrones de actividad EEG frontoparietales asociados a la codificación exitosa de los aspectos específicos que caracterizan a los diferentes emparejamientos. De hecho, al igual que no se encontraron diferencias de grupo en la memoria de reconocimiento tampoco se encontraron diferencias en la magnitud de la similitud entre los patrones de EEG producidos durante la cuarta repetición de los emparejamientos presentados en la fase de codificación y la primera presentación que tuvo lugar en la fase de reconocimiento. Estos resultados son coherentes con la idea de que la recuperación de la memoria episódica pasa por restablecer los patrones de actividad neural asociados a la codificación (Alvarez & Squire, 1994; McClelland *et al.*, 1995; Norman & O'Reilly, 2003), concretamente por restablecer los aspectos que son específicos del ítem o evento episódico (Ritchey *et al.*, 2013; Kuhl & Chun, 2014; Yaffe *et al.*, 2014; Wing *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2015). Aunque es imposible saber a partir de la distribución espacial de la similitud entre codificación y recuperación qué información en concreto se está reactivando, estudios basados en análisis multivariados de la señal proporcionada por la RMf han encontrado que el restablecimiento de patrones específicos se produce en regiones parietales y no en regiones visuales (Kuhl & Chun, 2014; Xiao *et al.*, 2017). De hecho, Xiao y colaboradores encontraron evidencias de que la información codificada en la corteza visual era reactivada durante la recuperación en la corteza frontoparietal (Xiao *et al.*, 2017). Luego, es posible que la reactivación de los patrones frontoparietales observados en el presente estudio estén igualmente relacionados con la activación de los aspectos distintivos de los diferentes emparejamientos.



Independientemente de cuál sea la naturaleza de la información reactivada por nuestros participantes en regiones frontoparietales, el grupo RAS mantuvo esta información reactivada por más tiempo que el grupo DSN (Figura 15), hecho que contribuyó al reconocimiento exitoso de los emparejamientos (Figura 16). Estudios previos han aportado evidencias a favor de que los patrones neurales identificados en fases tempranas del proceso de codificación (antes de los 200 ms) pueden ser reactivados en momentos más tardíos de la fase de recuperación, aproximadamente 500 ms después de la presentación de la clave (Jafarpour *et al.*, 2014). Este hecho sugiere que el hipocampo es capaz de reconstruir la representación del evento a partir de información parcial de una forma bastante rápida. Por lo tanto, es posible que la reactivación prolongada de los patrones neurales asociados a la codificación mostrada por el grupo RAS indique una mayor dificultad por parte de este grupo para recuperar los aspectos asociativos del evento que son dependientes del sistema hipocampal (Norman, 2010; Kumaran & McClellan, 2012). En línea con esta hipótesis, el grupo RAS tardó más tiempo que el grupo DSN en reconocer los emparejamientos presentados por primera vez durante la prueba de memoria.

Estudios previos han demostrado que la calidad de la codificación no solo determina la recuperación de aspectos contextuales durante la prueba de memoria (Kuhl *et al.*, 2012; Gordon *et al.*, 2014), sino que dicha asociación está mediada por la fidelidad de la representación reactivada durante el proceso de recuperación, la cual a su vez se asocia con el nivel de activación del hipocampo (Gordon *et al.*, 2014). En línea con estas evidencias, los resultados del presente trabajo mostraron que la calidad de la codificación y el patrón de reactivación contribuyen conjuntamente al reconocimiento de la memoria. Los resultados también sugieren que los procesos de consolidación que operan durante el sueño pueden llegar a moderar dicha asociación. En concreto, se encontró que el incremento del acoplamiento entre los HS y las OLs asociado a una baja calidad de la codificación se relaciona con una disminución de la magnitud de la similitud entre codificación y recuperación en las fases más tempranas del reconocimiento (< 300 ms) y con un aumento de dicha similitud en fases más tardías (> 400 ms) (Figura 17). Es probable, por tanto, que la similitud en diferentes intervalos temporales esté indicando la reactivación de diferentes procesos, unos más focalizados en los aspectos perceptivos del evento (*i.e.*, los más tempranos) y otros más

relacionados con aspectos asociativos dependientes del hipocampo (*i.e.*, los más tardíos). El hecho de que el acoplamiento entre los HS y las OLs fuese mayor en el grupo RAS y que la reactivación de la actividad EEG observada en el intervalo más tardío también fuese mayor en el grupo RAS no hace sino fortalecer la idea de que las memorias más débiles son las que más se benefician de los procesos de consolidación durante el sueño (Kuriyama *et al.*, 2004; Drosopoulos *et al.*, 2007; Peters *et al.*, 2007; Djonlagic *et al.*, 2009; Diekelmann *et al.*, 2010; Sio *et al.*, 2013; Creery *et al.*, 2015; McDevitt *et al.*, 2015; Cairney *et al.*, 2016; Dumay, 2016; van de Ven *et al.*, 2016; Schapiro *et al.*, 2017; Denis *et al.*, 2020, 2021; Walker *et al.*, 2020; Petzka *et al.*, 2021).

Los procesos de consolidación que operan durante el sueño también contribuyeron a las transformaciones que sufrió la memoria a lo largo de las sucesivas recuperaciones intencionadas que se produjeron durante la fase de reconocimiento. No obstante, esta contribución estuvo moderada por la calidad de la codificación. El acoplamiento HS-OL junto con el recuerdo repetitivo se asociaron con un aumento de la generalización de las memorias que se mostraron más inestables durante la codificación en detrimento de la especificidad. Cuanto mayor fue dicho acoplamiento, mayor fue el grado de similitud de los patrones EEG frontocentrales entre la codificación y la recuperación asociada a las diferentes repeticiones de los emparejamientos para los aspectos categóricos y menor el grado de similitud para los aspectos específicos. Justo lo contrario ocurrió para las memorias más fuertes (Figura 19). El efecto moderador de la calidad de la codificación fue especialmente notable en el grupo RAS. Una evidencia más a favor de la idea de que el sueño prioriza las memorias más débiles.

En línea con estos resultados, estudios previos han hallado una relación entre la densidad de HS y el patrón de similitud categórica en la corteza prefrontal mientras los participantes re-estudiaban la información adquirida el día antes (Cowan *et al.*, 2020). El hecho de que la codificación y los procesos de consolidación que tienen lugar durante el sueño y durante el recuerdo intencionado hayan afectado muy especialmente a la reactivación de los patrones neurales frontales es consistente con el papel de esta región cerebral, concretamente de la corteza prefrontal ventromedial en la consolidación de la memoria durante el sueño (Takashima *et al.*, 2006, 2007, 2009, Sterpenich *et al.*, 2007, 2009; Sekeres *et al.*, 2018) y en la integración de las nuevas memorias con el conocimiento pre-existente (Xue *et al.*, 2012; Bowman *et al.*, 2018; Cowan *et al.*, 2020).

Recientemente, otro estudio ha encontrado una relación entre la densidad de HS en el periodo de siesta post-entrenamiento y la memoria para los pares de palabras que se codificaron de forma más débil (Denis *et al.*, 2021). En particular, fueron los HS acoplados al *upstate* de las OLs los que correlacionaron con las memorias más débiles. Tomados en su conjunto, nuestros resultados y los reportados por estudios previos sugieren que los HS, y muy particularmente los HS anidados en las OLs, no solo contribuyen a estabilizar las memorias recién adquiridas (Mölle *et al.*, 2009, 2011; Niknazar *et al.*, 2015; Staresina *et al.*, 2015; Batterink *et al.*, 2016; Maingret *et al.*, 2016; Latchoumane *et al.*, 2017; Helfrich *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2019a, 2019b; Muehlroth *et al.*, 2019), sino que también son importantes para promover y mantener los cambios neurales que subyacen a la transformación de la memoria desencadenada por la recuperación intencionada ya sea durante la re-exposición al mismo evento (Cowan *et al.*, 2020), durante el recuerdo libre (Denis *et al.*, 2021) o durante el reconocimiento, como en el caso del presente estudio.

Cuando las representaciones neurales de las nuevas memorias son reactivadas de forma intencionada, estas se vuelven inestables (Sara, 2000a, 2000b). Esta inestabilidad podría facilitar el que dicha memoria fuera más susceptible a posibles interferencias llegando a ser incluso eliminada o, por el contrario, podría favorecer su actualización e integración con otras memorias similares (McKenzie & Eichenbaum, 2011; Nadel *et al.*, 2012). Nuestros resultados apoyan la idea de que la inestabilidad inducida por el recuerdo intencionado repetitivo favorece la generalización (Robertson, 2018), muy especialmente para las memorias cuyos detalles específicos no pudieron ser debidamente codificados. Esto no significa que las memorias fuertes no puedan sufrir este proceso de generalización, sino más bien que las memorias más débiles son más susceptibles a un exceso de generalización. Este problema podría verse exacerbado cuando el aprendizaje se produce en condiciones amenazantes (Starita *et al.*, 2019), o en personas que sufren cuadros de ansiedad (Lissek *et al.*, 2014), depresión o alteraciones del comportamiento alimentario (Thew *et al.*, 2017).

Nuestros resultados son consistentes con un cuerpo cada vez más amplio de evidencias que sugieren que los procesos de consolidación que actúan durante el sueño y durante el recuerdo intencionado cooperan a la hora de transformar las representaciones neurales de la memoria (Bäuml *et al.*, 2014; Mazza *et al.*, 2016; Antony *et al.*, 2017;

Antony & Paller, 2018; Ferreira *et al.*, 2019; Himmer *et al.*, 2019; Cowan *et al.*, 2020). Por ejemplo, Ferreira y colaboradores compararon los niveles de activación (*i.e.*, cambios en la señal BOLD derivada de la RMf) en regiones frontales e hipocampales para los estímulos que fueron re-estudiados frente a los que fueron recordados no solo en la fase de adquisición sino también dos días más tarde (Ferreira *et al.*, 2019). Los resultados mostraron un rápido incremento en el nivel de actividad de la corteza prefrontal asociado al recuerdo repetitivo durante la adquisición pero no a la recodificación del estímulo. Sin embargo, la reducción en los niveles de activación del hipocampo y el aumento en los patrones de similitud categórica no se produjo hasta que la recuperación tuvo lugar en la segunda sesión. Estos resultados nos indican que aún cuando el recuerdo intencionado puede iniciar los procesos de transformación, el sueño es necesario para continuar los procesos de transformación que conducen a la generalización del evento episódico. Al contrario de lo que cabría esperar, los autores de este estudio encontraron que dicha generalización no se producía en detrimento de la especificidad. Sin embargo, dos días más tarde se observó un aumento en el patrón de similitud específica en regiones parietales (Ferreira *et al.*, 2019).

Los resultados de nuestro estudio no son del todo comparables con los obtenidos por Ferreira *et al.* (2019) o por el resto de estudios mencionados anteriormente, debido a las importantes diferencias metodológicas. El presente estudio, además de modificar la cantidad de sueño en la noche previa a la fase de adquisición de la memoria, evaluó el efecto del recuerdo intencionado reiterado sobre la memoria en la fase de prueba después de una noche normal de sueño y no en la fase de adquisición como han hecho estudios previos (Antony & Paller, 2018; Himmer *et al.*, 2019; Baena *et al.*, 2020). Los participantes tampoco fueron expuestos a una segunda fase de codificación como han hecho otros estudios (Mazza *et al.*, 2016; Cowan *et al.*, 2020). Y en vez de comparar los cambios en la respuesta cerebral producidos tras un periodo de sueño y tras un periodo de vigilia (Himmer *et al.*, 2019), nosotros hemos evaluado la asociación entre el acoplamiento HS-OL y los cambios desencadenados por el recuerdo reiterado en la reactivación de la información evidenciada por la similitud categórica y específica. Tomadas en su conjunto, los resultados derivados de las diferentes aproximaciones indican que el sueño es necesario para la codificación de la nueva información (Drummond *et al.*, 2000; Harrison & Horne, 2000; Yoo *et al.*, 2007; Van der Werf *et al.*,

2009; Mander *et al.*, 2011; Antonenko *et al.*, 2013; Poh & Chee., 2017a, 2017b), para estabilizar, mantener y consolidar la información codificada, sobre todo si la calidad de la codificación es baja (Kuriyama *et al.*, 2004; Drosopoulos *et al.*, 2007; Peters *et al.*, 2007; Djonlagic *et al.*, 2009; Diekelmann *et al.*, 2010; Sio *et al.*, 2013; Creery *et al.*, 2015; McDevitt *et al.*, 2015; Cairney *et al.*, 2016; Dumay, 2016; van de Ven *et al.*, 2016; Schapiro *et al.*, 2017; Denis *et al.*, 2020, 2021; Walker *et al.*, 2020; Petzka *et al.*, 2021), para estabilizar y mantener las transformaciones iniciadas por el recuerdo reiterado en la fase de adquisición (Himmer *et al.*, 2019), y según los resultados del presente estudio, para equilibrar la especificidad y generalización de la memoria que se produce como resultado del recuerdo reiterado de la información en función de la calidad de la codificación.



## ***6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO***

---





## 6. Limitaciones del estudio

El presente trabajo de Tesis Doctoral presenta una serie de limitaciones que merecen consideración.

En primer lugar, para manipular la calidad de la codificación hemos reducido el tiempo de sueño a la mitad en la noche previa a la fase de adquisición, y luego hemos determinado el grado de similitud entre los patrones EEG asociados a cada una de las repeticiones del evento durante la fase de adquisición. Como no hemos incluido ninguna prueba de memoria justamente después, no disponemos de una medida comportamental asociada a la calidad de la codificación. Estudios previos, además de incluir una prueba de memoria justo después de la codificación, han manipulado la calidad de la misma presentando más o menos veces los diferentes estímulos (Denis *et al.*, 2021). Esta aproximación permite determinar si los estímulos que se presentan menos veces se recuerdan peor que los que se presentan más veces. En nuestro estudio, por el contrario, fue imposible saber si las memorias que se codificaron peor según el grado de similitud también se recordaron peor justamente después. Aunque no cabe duda que esto es una limitación, la inclusión de una prueba de memoria inmediata puede ser igualmente un factor de confusión ya que hay evidencias de que el recuerdo intencionado justo después del aprendizaje favorece el efecto beneficioso del sueño sobre la consolidación de dicha memoria (Schoch *et al.*, 2017) mientras que otros estudios aportan evidencias en sentido contrario (Bäuml *et al.*, 2014; Antony & Paller, 2018).

La memoria se evaluó mediante una prueba de reconocimiento. Para ello, los emparejamientos se presentaron bien de la misma forma que aparecieron en la fase de adquisición bien se combinaron de una forma diferente. Dado que las evidencias sugieren que los efectos del sueño sobre la consolidación son altamente dependientes de cómo se manipula la fuerza de la codificación (Denis *et al.*, 2020) y de las condiciones en las que se evalúa la memoria (Petzka *et al.*, 2021), es muy posible que nuestros resultados no puedan generalizarse más allá del contexto establecido en el presente estudio. Esta falta de generalización se ve exacerbada por el reducido tamaño de la muestra.

Como han hecho estudios previos, para evaluar el acoplamiento entre los HS y las OLs hemos utilizado una aproximación que cuantifica la cantidad de HS que coinciden con el *downstate* o *upstate* de las OLs (e.g., Mölle *et al.*, 2002, 2011; Yordanova *et al.*, 2017; Helfrich *et al.*, 2019; Muehlroth *et al.*, 2019). Sin embargo, un análisis de las relaciones de fase o relaciones de fase-amplitud entre estas dos oscilaciones hubiera arrojado una medida más precisa de dicho acoplamiento (e.g., Staresina *et al.*, 2015; Ladenbauer *et al.*, 2017; Helfrich *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020; Denis *et al.*, 2021).

Por último, el presente trabajo ha considerado el grado de similitud categórica entre los patrones EEG asociados a la codificación y posterior recuperación como un índice de generalización. Sin embargo, no se ha incluido ninguna medida comportamental de la transferencia del conocimiento. Es muy posible que esta haya sido una de las causas por la que no encontramos diferencias en el comportamiento al comparar los dos grupos. Los resultados del presente trabajo necesitan ser validados en una muestra más amplia que incluya medidas comportamentales asociadas a la codificación de la memoria y a la transferencia del conocimiento.

## ***7. CONCLUSIONES***

---



## 7. Conclusiones

- La restricción aguda de sueño ejerce un efecto negativo sobre la codificación, como se infiere de la reducción en la estabilidad de los patrones neurales.
- El tiempo que dura la reactivación de los patrones EEG frontoparietales asociados a la codificación durante la recuperación puede ser determinante para el éxito de la memoria de reconocimiento, sobre todo cuando la codificación ha sido débil.
- Las memorias más débiles se benefician en mayor medida de los procesos de consolidación que operan durante el sueño.
- Los procesos de consolidación que operan durante el sueño y durante el recuerdo intencionado reiterado interaccionan para transformar las representaciones neurales de la memoria. El resultado de esta interacción depende de la calidad de la codificación. Las memorias más débiles son más fácilmente generalizables en detrimento de la especificidad, mientras que lo contrario ocurre con las memorias asociadas a patrones neurales más estables durante la codificación.



## ***8. REFERENCIAS***

---





## 8. Referencias bibliográficas

- Abel T, Havekes R, Saletin JM, Walker MP (2013) Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Curr Biol* 23:R774-R788.
- Abraham WC, Jones OD, Glanzman DL (2019) Is plasticity of synapses the mechanism of long-term memory storage? *NPJ Sci Learn* 4:9.
- Adan A, Almirall H (1991). Horne & Östberg morningness-eveningness questionnaire: A reduced scale. *Pers Individ Dif* 12:241-253.
- Alberca-Reina E, Atienza M, Cantero JL (2014) Semantic congruence reverses effects of sleep restriction on associative encoding. *Neurobiol Learn Mem* 110:27-34.
- Alberca-Reina E, Cantero JL, Atienza M (2015) Sleep loss before learning alters the functional brain dynamics during memory retrieval. *Neuroimage* 123:51-62.
- Albo Z, & Gräff J (2018). The mysteries of remote memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 373.
- Alger SE, Chen S, Payne JD (2019) Do different salience cues compete for dominance in memory over a daytime nap? *Neurobiol Learn Mem* 160:48-57.
- Alvarez P, Squire LR (1994) Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci* 91:7041-7045.
- Anderer P, Klösch G, Gruber G, Trenker E, Pascual-Marqui RD, Zeitlhofer J, Barbanoj MJ, Rappelsberger P, Saletu B (2001) Low-resolution brain electromagnetic tomography revealed simultaneously active frontal and parietal sleep spindle sources in the human cortex. *Neuroscience* 103:581-592.
- Anderson MC, Bjork RA, Bjork EL (1994) Remembering can cause forgetting: retrieval dynamics in long-term memory. *J Exp Psychol Learn Mem Cognit* 20:1063-1087.
- Andrillon T, Nir Y, Staba RJ, Ferrarelli F, Cirelli C, Tononi G, Fried I (2011) Sleep spindles in humans: insights from intracranial EEG and unit recordings. *J Neurosci* 31:17821-17834.
- Antonenko D, Diekelmann S, Olsen C, Born J Mölle M (2013) Napping to renew learning capacity: enhanced encoding after stimulation of sleep slow oscillations. *Eur J Neurosci* 37:1142-1151.
- Antony JW, Paller KA (2018) Retrieval and sleep both counteract the forgetting of spatial information. *Learn Mem* 25:258-263.
- Antony JW, Gobel EW, O'Hare JK, Reber PJ, Paller KA (2012) Cued memory reactivation during sleep influences skill learning. *Nat Neurosci* 15:1114-1116.
- Antony JW, Ferreira CS, Norman KA, Wimber M (2017) Retrieval as a Fast Route to Memory Consolidation. *Trends Cogn Sci* 21:573-576.
- Antony JW, Piloto L, Wang M, Pacheco P, Norman KA, Paller KA (2018) Sleep spindle refractoriness segregates periods of memory reactivation. *Curr Biol* 28:1736-1743.

Antony JW, Schönauer M, Staresina BP, Cairney SA (2019) Sleep spindles and memory reprocessing. *Trends Neurosci* 42:1-3.

Axelsson J, Ingre M, Kecklund G, Lekander M, Wright KP, Sundelin T (2020) Sleepiness as motivation: a potential mechanism for how sleep deprivation affects behavior. *Sleep* 43:zs291.

Axmacher N, Elger CE, Fell J (2008) Ripples in the medial temporal lobe are relevant for human memory consolidation. *Brain* 131:1806-1817.

Axmacher N, Draguhn A, Elger CE, Fell J (2009) Memory processes during sleep: beyond the standard consolidation theory. *Cell Mol Life Sci* 66:2285-97.

Babkoff H, Caspy T, Mikulincer M (1991) Subjective sleepiness ratings: the effects of sleep deprivation, circadian rhythmicity and cognitive performance. *Sleep* 14:534-539.

Bai C-H, Bridger EK, Zimmer HD, Mecklinger A (2015) The beneficial effect of testing: an event-related potential study. *Front Behav Neurosci* 9:248.

Banjanovic ES, Osborne JW (2016) Confidence intervals for effect sizes: applying bootstrap resampling. *Pract Assess Res Eval* 21:1-20.

Bartsch U, Simpkin AJ, Demanuele C, Wamsley E, Marston HM, Jones MW (2019) Distributed slow-wave dynamics during sleep predict memory consolidation and its impairment in schizophrenia. *NPJ Schizophr* 5:18.

Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Statist Soft* 67.

Battaglia FP, Sutherland GR, McNaughton BL (2004) Hippocampal sharp wave bursts coincide with neocortical "up-state" transitions. *Learn Mem* 11:697-704.

Battaglia FP, Borensztajn G, & Bod R (2012) Structured cognition and neural systems: from rats to language. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 36:1626-1639.

Batterink LJ, Creery JD, & Paller KA (2016) Phase of spontaneous slow oscillations during sleep influences memory-related processing of auditory cues. *Journal of Neuroscience* 36:1401-1409.

Bäumli KHT, Holtermann C, Abel M (2014) Sleep can reduce the testing effect: it enhances recall of restudied items but can leave recall of retrieved items unaffected. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 40:1568-1581.

Belal S, Cousins J, El-Dereby W, Parkes L, Schneider J, Tsujimura H, Zoumpoulaki A, Perapoch M, Santamaria L, Lewis P (2018) Identification of memory reactivation during sleep by EEG classification. *Neuroimage* 176:203-214.

Belenky G, Wesensten NJ, Thorne DR, Thomas ML, Sing HC, Redmond DP, Russo MB, Balkin TJ (2003) Patterns of performance degradation and restoration during sleep restriction and subsequent recovery: a sleep dose-response study. *J Sleep Res* 2003 12:1-12.

- Bell AJ, & Sejnowski TJ (1995) An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *Neural computation* 7:1129-1159.
- Ben-Yakov A, Dudai Y (2011) Constructing realistic engrams: poststimulus activity of hippocampus and dorsal striatum predicts subsequent episodic memory. *J Neurosci* 31:9032-9042.
- Bendor D, Wilson MA (2012) Biasing the content of hippocampal replay during sleep. *Nat Neurosci* 15:1439-1444.
- Benito E, Barco A (2010) CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models. *Trends Neurosci*. 33:230-240.
- Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the False Discovery Rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Royal Stat Soc Ser B* 57:289-300.
- Bennion KA, Payne JD, Kensinger EA (2016) The impact of napping on memory for future-relevant stimuli: Prioritization among multiple salience cues. *Behav Neurosci* 130:281-289.
- Bergmann TO, Mölle M, Diedrichs J, Born J, Siebner HR (2012) Sleep spindle-related reactivation of category-specific cortical regions after learning face-scene associations. *Neuroimage* 59:2733-2742.
- Bero AW, Meng J, Cho S, Shen AH, Canter RG, Ericsson M, Tsai LH (2014) Early remodeling of the neocortex upon episodic memory encoding. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:852-11857.
- Bersagliere A, Achermann P (2010) Slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep electroencephalogram: effects of increased sleep pressure. *J Sleep Res* 19:228-237.
- Binder S, Rawohl J, Born J, Marshall L (2014) Transcranial slow oscillation stimulation during NREM sleep enhances acquisition of the radial maze task and modulates cortical network activity in rats. *Front Behav Neurosci* 7:220.
- Bonnici HM, Chadwick MJ, Lutti A, Hassabis D, Weiskopf N, Maguire EA (2012) Detecting representations of recent and remote autobiographical memories in vmPFC and hippocampus. *J Neurosci* 32:16982-6991.
- Borbély, AA (1982). A two-process model of sleep regulation. *Hum Neurobiol* 1:195-204.
- Born J, Wilhelm I (2012) System consolidation of memory during sleep. *Psychol Res* 76:192-203.
- Born J, Rasch B, Gais S (2006) Sleep to remember. *The Neuroscientist* 12:410-424.
- Bowman CR, Zeithamova D (2018) Abstract memory representations in the ventromedial prefrontal cortex and hippocampus support concept generalization. *J Neurosci* 38:2605-2614.
- Brod G, Werkle-Bergner M, Shing YL (2013) The influence of prior knowledge on memory: a developmental cognitive neuroscience perspective. *Front Behav Neurosci*. 7:139.

- Brodt S, Pöhlchen D, Flanagin VL, Glasauer S, Gais S, Schönauer M (2016) Rapid and independent memory formation in the parietal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113:13251-13256.
- Bruett H, Calloway RC, Tokowicz N, Coutanche MN (2020) Neural pattern similarity across concept exemplars predicts memory after a long delay. *Neuroimage* 219:117030.
- Budson AE, Sullivan AL, Mayer E, Daffner KR, Black PM, Schacter DL (2002) Suppression of false recognition in Alzheimer's disease and in patients with frontal lobe lesions. *Brain* 125:2750-2765.
- Buela-Casal G, Sierra JC (1994). Escalas para evaluar la activación-somnolencia. *Vigilia-Sueño* 6:13-19.
- Butler AC (2010) Repeated testing produces superior transfer of learning relative to repeated studying. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 36:1118-1133.
- Buzsáki G, Vanderwolf CH (1983) Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. *Brain Research Reviews* 6:139-171.
- Buzsáki G (1989) Two-stage model of memory trace formation: A role for "noisy" brain states. *Neuroscience* 31:551-570.
- Buzsáki G (2015) Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning. *Hippocampus* 25:1073-1188.
- Cajochen C, Di Biase R, Imai M (2008) Interhemispheric EEG asymmetries during unilateral bright-light exposure and subsequent sleep in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294:R1053-R1060.
- Cairney SA, Lindsay S, Sobczak JM, Paller KA, Gaskell MG (2016) The benefits of targeted memory reactivation for consolidation in sleep are contingent on memory accuracy and direct cue-memory associations. *Sleep* 39:1139-1150.
- Cairney SA, Guttesen AAV, El Marj N, Staresina BP (2018) Memory consolidation is linked to spindle-mediated information processing during sleep. *Curr Bio.* 28:948-954.
- Cantero JL, Atienza M, Salas RM, Dominguez-Marin E (2002) Effects of prolonged waking-auditory stimulation on electroencephalogram synchronization and cortical coherence during subsequent slow-wave sleep. *J Neurosci* 22:4702-4708.
- Carpenter SK, Pashler H, Wixted JT, Vul E (2008) The effects of tests on learning and forgetting. *Mem Cognit* 36:438-448.
- Carpenter SK (2009) Cue strength as a moderator of the testing effect: the benefits of elaborative retrieval. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 35:1563-1569.
- Carr MF, Jadhav SP, Frank LM (2011) Hippocampal replay in the awake state: a potential substrate for memory consolidation and retrieval. *Nat Neurosci* 14:147-153.
- Chan JC (2010) Long-term effects of testing on the recall of nontested materials. *Memory* 18:49-57.
- Chen Z, Wilson MA (2017) Deciphering Neural Codes of Memory during Sleep. *Trends Neurosci* 40:260-275.

- Chen SX, Kim AN, Peters AJ, Komiyama T (2015) Subtype-specific plasticity of inhibitory circuits in motor cortex during motor learning. *Nat Neurosci* 18:1109-1115.
- Chiu MJ, Lin CW, Chen CC, Chen TF, Chen YF, Liu HM, Chu CP, Liou HH, Hua MS (2010) Impaired gist memory in patients with temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *Epilepsia* 51:1036-1042.
- Cichon J, Gan WB (2015) Branch-specific dendritic Ca(2+) spikes cause persistent synaptic plasticity. *Nature* 520:180-185.
- Clark A (2013) Whatever next? Predictive brains, situated agents, and the future of cognitive science. *Behav Brain Sci* 36:181-204.
- Clemens Z, Mölle M, Eross L, Barsi P, Halász P, Born J (2007) Temporal coupling of parahippocampal ripples, sleep spindles and slow oscillations in humans. *Brain* 130:2868-2878.
- Cohen J (1992) Statistical Power Analysis. *Curr Dir Psychol Sci* 1:98-101.
- Contel Guillamón M, Gual Solé A, Colom Farran J (1999) Test para la identificación de trastornos por uso de alcohol (audit): traducción y validación del audit al catalán y castellano. *Adicciones* 11: 337-347.
- Coppieters't Wallant D, Maquet P, Phillips C (2016) Sleep spindles as an electrographic element: description and automatic detection methods. *Neural Plasticity*, 2016.
- Cousins JN, El-Deredy W, Parkes LM, Hennies N, Lewis PA (2014) Cued memory reactivation during slow-wave sleep promotes explicit knowledge of a motor sequence. *J Neurosci* 34:15870-15876.
- Cousins JN, Sasmita K, Chee MWL (2017) Memory encoding is impaired after multiple nights of partial sleep restriction. *J Sleep Res*
- Cousins JN, Sasmita K, Chee MWL (2018) Memory encoding is impaired after multiple nights of partial sleep restriction. *J Sleep Res* 27:138-145.
- Cowan N, Morey CC, Naveh-Benjamin M (2020) An Embedded-Processes Approach to Working Memory. *Working Memory: The state of the science* 44.
- Cox R, Hofman WF, de Boer M, Talamini LM (2014) Local sleep spindle modulations in relation to specific memory cues. *Neuroimage* 99:103-110.
- Cox R, Schapiro AC, Manoach DS, Stickgold R (2017) Individual Differences in Frequency and Topography of Slow and Fast Sleep Spindles. *Front Hum Neurosci* 11:433.
- Cox R, Mylonas DS, Manoach DS, Stickgold R (2018) Large-scale structure and individual fingerprints of locally coupled sleep oscillations. *Sleep* 41:zs175.
- Cox, R. C., Upender, R. P., & Olatunji, B. O. (2020). Linking inhibition and anxiety symptoms following sleep restriction: The moderating role of prior sleep efficiency. *Behaviour research and therapy*, 127, 103575.
- Creery JD, Oudiette D, Antony JW, Paller KA (2015) Targeted memory reactivation during sleep depends on prior learning. *Sleep* 38:755-763.

Cumming G (2012) Understanding the New Statistics: Effect sizes, Confidence Intervals, and Meta-Analysis. New York, NY. Routledge.

Cunningham JEA, Jones SAH, Eskes GA, Rusak B (2018) Acute Sleep Restriction Has Differential Effects on Components of Attention. *Front Psychiatry* 9:499.

Davachi L, Danker JF (2013) The cognitive neuroscience of episodic memory. In: Ochsner KN, Kosslyn SM, editors. *The handbook of cognitive neuroscience*, Vol. I. New York (NY): Oxford University Press.

David F, Schmiedt JT, Taylor HL, Orban G, Di Giovanni G, Uebele VN, Renger JJ, Lambert RC, Leresche N, Crunelli V (2013) Essential thalamic contribution to slow waves of natural sleep. *J Neurosci* 33:19599-195610.

Declaración de Helsinki-Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Promulgada por la Asociación Médica Mundial en Seúl, Corea, octubre de 2008. Disponible en <https://www.wma.net/es/politicas-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>

de Sousa AF, Cowansage KK, Zutshi I, Cardozo LM, Yoo EJ, Leutgeb S, Mayford M (2019) Optogenetic reactivation of memory ensembles in the retrosplenial cortex induces systems consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:8576-8581.

Deco G, Hagmann P, Hudetz AG, Tononi G (2014) Modeling resting-state functional networks when the cortex falls asleep: local and global changes. *Cereb Cortex* 24:3180-94.

De Gennaro L, Ferrara M (2003) Sleep spindles: an overview. *Sleep Med Rev* 7:423-440.

Demanuele C, Bartsch U, Baran B, Khan S, Vangel MG, Cox R, Härmäläinen M, Jones MW, Stickgold R, Manoach DS (2017) Coordination of Slow Waves With Sleep Spindles Predicts Sleep-Dependent Memory Consolidation in Schizophrenia. *Sleep* 40:zsw013.

Denis D, Schapiro AC, Poskanzer C, Bursal V, Charon L, Morgan A, Stickgold R (2020) The roles of item exposure and visualization success in the consolidation of memories across wake and sleep. *Learn Mem* 27:451-456.

Denis D, Mylonas D, Poskanzer C, Bursal V, Payne JD, Stickgold R (2021) Sleep spindles preferentially consolidate weakly encoded memories. *J Neurosci*.

Deuker L, Olligs J, Fell J, Kranz TA, Mormann F, Montag C, Reuter M, Elger CE, Axmacher N (2013) Memory consolidation by replay of stimulus-specific neural activity. *J Neurosci* 33:19373-19383.

Diba K, Buzsáki G (2007) Forward and reverse hippocampal place-cell sequences during ripples. *Nat Neurosci* 10:1241-1242.

DiCiccio TJ, Efron B (1996) Bootstrap confidence intervals. *Stat Sci* 189-212.

Diekelmann S, Born J (2010) The memory function of sleep. *Nature Reviews Neuroscience* 11:114-126.

Diekelmann S, Born J (2010) The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci* 11:114-126.

- Diekelmann S, Büchel C, Born J, Rasch B (2011) Labile or stable: opposing consequences for memory when reactivated during waking and sleep. *Nat Neurosci* 14:381-386.
- Djonlagic I, Rosenfeld A, Shohamy D, Myers C, Gluck M, Stickgold R (2009) Sleep enhances category learning. *Learn Mem* 16:751-755.
- Dolcos F, LaBar KS, Cabeza R (2005) Remembering one year later: role of the amygdala and the medial temporal lobe memory system in retrieving emotional memories. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:2626-2631.
- Drosopoulos S, Schulze C, Fischer S, Born J (2007) Sleep's function in the spontaneous recovery and consolidation of memories. *J Exp Psychol Gen* 136:169-183.
- Drummond SP, Brown GG, Gillin JC, Stricker JL, Wong EC, Buxton RB (2000) Altered brain response to verbal learning following sleep deprivation. *Nature* 403:655-657.
- Dudai Y, Karni A, Born J (2015) The consolidation and transformation of memory. *Neuron* 88:20-32.
- Dudai Y (2012) The restless engram: consolidations never end. *Annu Rev Neurosci* 35:227-247.
- Dumay J, Bernardi C, Guthrie J, Demartini P (2016) Integrated reporting: A structured literature review. *Accounting Forum* 40:166-185.
- Durrant S, Lewis PA (2009) Memory consolidation: tracking transfer with functional connectivity. *Curr Biol* 19:R860-R862.
- Efron B, Tibshirani RJ (1993) An Introduction to the Bootstrap, volume 57 of. *Monographs on Statistics and applied probability*, 17.
- Eglington LG, Kang SHK (2018) Retrieval practice benefits deductive inference. *Educ Psychol Rev* 30:215-228.
- Ego-Stengel V, Wilson MA (2010) Disruption of ripple-associated hippocampal activity during rest impairs spatial learning in the rat. *Hippocampus* 20:1-10.
- Eichenbaum H (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci* 1:41-50.
- Eichenbaum H (2017) Memory: Organization and control. *Annu Rev Neurosci* 68:19-45.
- Eichenlaub JB, Jarosiewicz B, Saab J, Franco B, Kelemen J, Halgren E, Hochberg LR, Cash SS (2020) Replay of Learned Neural Firing Sequences during Rest in Human Motor Cortex. *Cell Rep* 31:107581.
- Ellenbogen JM, Hu PT, Payne JD, Titone D, Walker MP (2007) Human relational memory requires time and sleep. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:7723-7728.
- Eriksson J, Kalpouzos G, Nyberg L (2011) Rewiring the brain with repeated retrieval: a parametric fMRI study of the testing effect. *Neurosci Lett* 505:36-40.
- Eschenko O, Magri C, Panzeri S, Sara SJ (2012) Noradrenergic neurons of the locus coeruleus are phase locked to cortical up-down states during sleep. *Cerebral Cortex* 22:426-435.

- Eschenko O, Sara SJ (2008) Learning-dependent, transient increase of activity in noradrenergic neurons of locus coeruleus during slow wave sleep in the rat: Brain stem–cortex interplay for memory consolidation? *Cerebral Cortex* 18:2596-2603.
- Feng K, Zhao X, Liu J, Cai Y, Ye Z, Chen C, Xue G (2019) Spaced Learning Enhances Episodic Memory by Increasing Neural Pattern Similarity Across Repetitions. *J Neurosci* 39:5351-5360.
- Ferreira CS, Charest I, Wimber M (2019) Retrieval aids the creation of a generalised memory trace and strengthens episode-unique information. *Neuroimage* 201:115996.
- Fogel SM, Smith CT (2011) The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation. *Neurosci Biobehav Rev* 35:1154-1165.
- Foster DJ, Wilson MA (2006) Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature* 440:680-683.
- Fuentemilla L, Miró J, Ripollés P, Vilà-Balló A, Juncadella M, Castañer S, Salord N, Monasterio C, Falip M, Rodríguez-Fornells A (2013) Hippocampus-dependent strengthening of targeted memories via reactivation during sleep in humans. *Curr Biol* 23:1769-1775.
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6:119-130.
- Gais S, Albouy G, Boly M, Dang-Vu TT, Darsaud A, Desseilles M, Rauchs G, Schabus M, Sterpenich V, Vandewalle G, Maquet P, Peigneux P (2007) Sleep transforms the cerebral trace of declarative memories. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:18778-18783.
- Garside P, Arizpe J, Lau CI, Goh C, Walsh V (2015) Cross-hemispheric Alternating Current Stimulation During a Nap Disrupts Slow Wave Activity and Associated Memory Consolidation. *Brain Stimul* 8:520-527.
- Genzel L (2020) Memory and sleep: brain networks, cell dynamics and global states. *Behav Sci* 32:72-79.
- Gerstner JR, Yin JC (2010) Circadian rhythms and memory formation. *Nat Rev Neurosci* 11:577-588.
- Ghandour K, Ohkawa N, Fung CCA, Asai H, Saitoh Y, Takekawa T, Okubo-Suzuki R, Soya S, Nishizono H, Matsuo M, Osanai M, Sato M, Ohkura M, Nakai J, Hayashi Y, Sakurai T, Kitamura T, Fukai T, Inokuchi K (2019) Orchestrated ensemble activities constitute a hippocampal memory engram. *Nat Commun* 10:2637.
- Gilboa A, Marlatte H (2017) Neurobiology of Schemas and Schema-Mediated Memory. *Trends Cogn Sci* 21:618-631.
- Giri B, Miyawaki H, Mizuseki K, Cheng S, Diba K (2019) Hippocampal Reactivation Extends for Several Hours Following Novel Experience. *J Neurosci* 39:866-875.
- Girardeau G, Benchenane K, Wiener SI, Buzsaki G, Zugaro MB (2009) Selective suppression of hippocampal ripples impairs spatial memory. *Nat Neurosci* 12:1222-1223.



- Göldi M, van Poppel EAM, Rasch B, Schreiner T (2019) Increased neuronal signatures of targeted memory reactivation during slow-wave up states. *Sci Rep* 9:2715.
- Gómez RL, Bootzin RR, Nadel L (2006) Naps promote abstraction in language-learning infants. *Psychol Sci* 17:670-674.
- Gordon AM, Rissman J, Kiani R, Wagner AD (2014) Cortical reinstatement mediates the relationship between content-specific encoding activity and subsequent recollection decisions. *Cereb Cortex* 24(12):3350-3364.
- Gradisar M, Gardner G, Dohnt H (2011) Recent worldwide sleep patterns and problems during adolescence: a review and meta-analysis of age, region, and sleep. *Sleep Med* 12:110-118.
- Griffiths BJ, Parish G, Roux F, Michelmann S, van der Plas M, Kolibius LD, Chelvarajah R, Rollings DT, Sawlani V, Hamer H, Gollwitzer S, Kreiselmeier G, Staresina B, Wimber M, Hanslmayr S (2019) Directional coupling of slow and fast hippocampal gamma with neocortical alpha/beta oscillations in human episodic memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:21834-21842.
- Gutiérrez-Zotes JA, Ramos JA, Sáiz J (2001) Desarrollo de la versión española del cuestionario de personalidad Zuckerman-Kuhlman (ZKPQ-III) y propiedades psicométricas. *Psiquis* 22:239-250.
- Hahn MA, Heib D, Schabus M, Hoedlmoser K, Helfrich RF (2020) Slow oscillation-spindle coupling predicts enhanced memory formation from childhood to adolescence. *Elife* 9:e53730.
- Hair JF, Anderson RE, Babin BJ, Black WC (2010) *Multivariate data analysis: A global perspective* (Vol. 7).
- Harand C, Bertran F, La Joie R, Landeau B, Mézenge F, Desgranges B, Peigneux P, Eustache F, Rauchs G (2012) The hippocampus remains activated over the long term for the retrieval of truly episodic memories. *PLoS One* 7:e43495.
- Harrison Y, Horne JA (2000) The impact of sleep deprivation on decision making: a review. *Journal of experimental psychology: Applied*, 6:236.
- Helfrich RF, Mander BA, Jagust WJ, Knight RT, Walker MP (2018) Old Brains Come Uncoupled in Sleep: Slow Wave-Spindle Synchrony, Brain Atrophy, and Forgetting. *Neuron* 97:221-230.
- Helfrich RF, Lendner JD, Mander BA, Guillen H, Paff M, Mnatsakanyan L, Vadera S, Walker MP, Lin JJ, Knight RT (2019) Bidirectional prefrontal-hippocampal dynamics organize information transfer during sleep in humans. *Nature Communications* 10:3572.
- Himmer L, Schönauer M, Heib DPJ, Schabus M, Gais S (2019) Rehearsal initiates systems memory consolidation, sleep makes it last. *Sci Adv* 5:eaav1695.
- Huber R, Ghilardi MF, Massimini M, Tononi G (2004) Local sleep and learning. *Nature* 430:78-81.
- Hulbert JC, Norman KA (2015) Neural differentiation tracks improved recall of competing memories following interleaved study and retrieval practice. *Cereb Cortex* 25:3994-4008.

- Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson AL Jr, Quan SF (2007) The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology, and technical specification. 1st ed. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine.
- Jacoby LL, Wahlheim CN, Coane JH (2010) Test-enhanced learning of natural concepts: effects on recognition memory, classification, and metacognition. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 36:1441-1451.
- Jafarpour A, Fuentemilla L, Horner AJ, Penny W, Duzel E. Replay of very early encoding representations during recollection (2014) *J Neurosci* 34(1):242-248.
- Jasper HH, Proctor LD, Knighton RS, Noshay WC, Costello RT (1958) Reticular formation of the brain. *Academic Medicine* 33.
- Ji D, Wilson MA (2007) Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* 10:100-107.
- Jiang X, Gonzalez-Martinez J, Halgren E (2019a) Coordination of Human Hippocampal Sharpwave Ripples during NREM Sleep with Cortical Theta Bursts, Spindles, Downstates, and Upstates. *J Neurosci* 39:8744-8761.
- Jiang X, Gonzalez-Martinez J, Halgren E (2019b) Posterior Hippocampal Spindle Ripples Co-occur with Neocortical Theta Bursts and Downstates-Upstates, and Phase-Lock with Parietal Spindles during NREM Sleep in Humans. *J Neurosci* 39:8949-8968.
- Jin M, Glickfeld LL (2019) Contribution of Sensory Encoding to Measured Bias. *J Neurosci* 39:5115-5127.
- Johnson LA, Euston DR, Tatsuno M, McNaughton BL (2010) Stored-trace reactivation in rat prefrontal cortex is correlated with down-to-up state fluctuation density. *J Neurosci* 30:2650-2661.
- Johnson LA, Blakely T, Hermes D, Hakimian S, Ramsey NF, Ojemann JG (2012) Sleep spindles are locally modulated by training on a brain-computer interface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:18583-18588.
- Jones MW, Wilson MA (2005) Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biology* 3(12): e402.
- Kandel ER, Dudai Y, Mayford MR (2014) The molecular and systems biology of memory. *Cell* 157:163-186.
- Kang SH, McDaniel MA, Pashler H (2011) Effects of testing on learning of functions. *Psychon Bull Rev* 18:998-1005.
- Karlsson Wirebring L, Wiklund-Hörnqvist C, Eriksson J, Andersson M, Jonsson B, Nyberg L. Lesser Neural Pattern Similarity across Repeated Tests Is Associated with Better Long-Term Memory Retention. *J Neurosci* 35:9595-9602.
- Kattler H, Dijk DJ, Borbély AA (1994) Effect of unilateral somatosensory stimulation prior to sleep on the sleep EEG in humans. *J Sleep Res* 3:159-164.
- Ketz N, Jones AP, Bryant NB, Clark VP, Pilly PK (2018) Closed-Loop Slow-Wave tACS Improves Sleep-Dependent Long-Term Memory Generalization by Modulating Endogenous Oscillations. *J Neurosci* 38:7314-7326.

- Kitamura T, Ogawa SK, Roy DS, Okuyama T, Morrissey MD, Smith LM, Redondo RL, Tonegawa S (2017) Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory. *Science* 356:73-78.
- Klein SB, Nichols S (2012) Memory and the sense of personal identity. *Mind* 121:677-702.
- Klein SB, Robertson TE, Delton AW (2010) Facing the future: memory as an evolved system for planning future acts. *Mem Cognit* 38:13-22.
- Khodagholy D, Gelinas JN, Buzsáki G (2017) Learning-enhanced coupling between ripple oscillations in association cortices and hippocampus. *Science* 358:369-372.
- Klinzing JG, Niethard N, Born J (2019) Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci* 22:1598-1610.
- Knoblauch V, Martens WLJ, Wirz-Justice A, Cajochen C (2003) Human sleep spindle characteristics after sleep deprivation. *Clin Neurophysiol* 114:2258-2267.
- Kornell N, Bjork RA, Garcia MA (2011) Why tests appear to prevent forgetting: a distribution-based bifurcation model. *J Mem Lang* 65:85-97.
- Kragel PA, Carter RM, Huettel SA (2012) What makes a pattern? Matching decoding methods to data in multivariate pattern analysis. *Front Neurosci* 6:162.
- Krause AJ, Simon EB, Mander BA, Greer SM, Saletin JM, Goldstein-Piekarski AN, Walker MP (2017) The sleep-deprived human brain. *Nat Rev Neurosci* 18:404-418.
- Kriegeskorte N, Mur M, Bandettini P (2008) Representational similarity analysis - connecting the branches of systems neuroscience. *Front Syst Neurosci* 2:4.
- Kudrimoti HS, Barnes CA, McNaughton BL (1999) Reactivation of hippocampal cell assemblies: effects of behavioral state, experience, and EEG dynamics. *J Neurosci* 19:4090-4101.
- Kuhl BA, Chun MM (2014) Successful remembering elicits event-specific activity patterns in lateral parietal cortex. *J Neurosci* 34:8051-8060.
- Kuhn M, Wolf E, Maier JG, Mainberger F, Feige B, Schmid H, Bürklin J, Maywald S, Mall V, Jung NH, Reis J, Spiegelhalter K, Klöppel S, Sterr A, Eckert A, Riemann D, Normann C, Nissen C (2016) Sleep recalibrates homeostatic and associative synaptic plasticity in the human cortex. *Nat Commun* 7:12455.
- Kuhl BA, Bainbridge WA, Chun MM (2012) Neural reactivation reveals mechanisms for updating memory. *J Neurosci* 32:3453-3461.
- Kumaran D, Hassabis D, McClelland JL (2016) What Learning Systems do Intelligent Agents Need? Complementary Learning Systems Theory Updated. *Trends Cogn Sci* 20:512-534.
- Kumaran D, McClelland JL (2012) Generalization through the recurrent interaction of episodic memories: a model of the hippocampal system. *Psychol Rev* 119:573-616.
- Kuriyama K, Stickgold R, Walker MP (2004) Sleep-dependent learning and motor-skill complexity. *Learn Mem* 11:705-713.

Ladenbauer J, Ladenbauer J, Külzow N, de Boer R, Avramova E, Grittner U, Flöel A (2017) Promoting Sleep Oscillations and Their Functional Coupling by Transcranial Stimulation Enhances Memory Consolidation in Mild Cognitive Impairment. *J Neurosci* 37:7111-7124.

Lakens D (2013) Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Front Psychol* 4:863.

Lansink CS, Goltstein PM, Lankelma JV, McNaughton BL, Pennartz CM (2009) Hippocampus leads ventral striatum in replay of place-reward information. *PLoS Biol* 7:e1000173.

LaRocque KF, Smith ME, Carr VA, Witthoft N, Grill-Spector K, Wagner AD (2013) Global similarity and pattern separation in the human medial temporal lobe predict subsequent memory. *J Neurosci* 33:5466-5474.

Larsen DP, Butler AC, Lawson AL, Roediger HL 3rd (2013) The importance of seeing the patient: test-enhanced learning with standardized patients and written tests improves clinical application of knowledge. *Adv Health Sci Educ Theory Pract* 18:409-425.

Latchoumane CV, Ngo HV, Born J, Shin HS (2017) Thalamic Spindles Promote Memory Formation during Sleep through Triple Phase-Locking of Cortical, Thalamic, and Hippocampal Rhythms. *Neuron* 95:424-435.

Lechner HA, Squire LR, Byrne JH (1999) 100 years of consolidation-remembering Müller and Pilzecker. *Learn Mem* 6:77-87.

Lawrence MA (2015) ez: Easy Analysis and Visualizatin of Factorial Experiments. R package version 4.3.

Lee AK, Wilson MA (2002) Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron* 36:1183-1194.

Lee YF, Gerashchenko D, Timofeev I, Bacsikai BJ, Kastanenka KV (2020) Slow Wave Sleep Is a Promising Intervention Target for Alzheimer's Disease. *Front Neurosci* 14:705.

Leminen MM, Virkkala J, Saure E, Paajanen T, Zee PC, Santostasi G, Hublin C, Müller K, Porkka-Heiskanen T, Huotilainen M, Paunio T (2017) Enhanced Memory Consolidation Via Automatic Sound Stimulation During Non-REM Sleep. *Sleep* 40:zsx003.

Leproult R, Colecchia EF, Berardi AM, Stickgold R, Kosslyn SM, Van Cauter E (2003) Individual differences in subjective and objective alertness during sleep deprivation are stable and unrelated. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284:R280-R290.

Lewis PA, Bendor D (2019) How Targeted Memory Reactivation Promotes the Selective Strengthening of Memories in Sleep. *Curr Biol* 29:R906-R912.

Lewis PA, Durrant SJ (2011) Overlapping memory replay during sleep builds cognitive schemata. *Trends Cogn Sci* 15:343-351.

Lewis PA, Knoblich G, Poe G (2018) How Memory Replay in Sleep Boosts Creative Problem-Solving. *Trends Cogn Sci* 22:491-503.

- Libkuman TM, Nichols-Whitehead P, Griffith J, Thomas R (1999) Source of arousal and memory for detail. *Mem Cognit* 27:166-90.
- Lindemann C, Ahlbeck J, Bitzenhofer SH, Hanganu-Opatz IL (2016) Spindle Activity Orchestrates Plasticity during Development and Sleep. *Neural Plast* 2016:5787423.
- Lisman J (2015) The challenge of understanding the brain: where we stand in 2015. *Neuron* 86:864-882.
- Lissek S, Kaczurkin AN, Rabin S, Geraci M, Pine DS, Grillon C (2014) Generalized anxiety disorder is associated with overgeneralization of classically conditioned fear. *Biological psychiatry* 75:909-915.
- Liu XL, Reder LM (2016) fMRI exploration of pedagogical benefits of repeated testing: when more is not always better. *Brain Behav* 6:e00476.
- Lo JC, Ong JL, Leong RL, Gooley JJ, Chee MW (2016) Cognitive Performance, Sleepiness, and Mood in Partially Sleep Deprived Adolescents: The Need for Sleep Study. *Sleep* 39:687-698.
- Lu Y, Wang C, Chen C, Xue G (2015) Spatiotemporal neural pattern similarity supports episodic memory. *Curr Biol* 25:780-785.
- Lustenberger C, Boyle MR, Alagapan S, Mellin JM, Vaughn BV, Fröhlich F (2016) Feedback-Controlled Transcranial Alternating Current Stimulation Reveals a Functional Role of Sleep Spindles in Motor Memory Consolidation. *Curr Biol* 26:2127-2136.
- Lutz ND, Diekelmann S, Hinse-Stern P, Born J, Rauss K (2017) Sleep supports the slow abstraction of gist from visual perceptual memories. *Sci Rep* 7:42950.
- Maier JG, Kuhn M, Mainberger F, Nachtsheim K, Guo S, Bucsenez U, Nissen C (2019) Sleep orchestrates indices of local plasticity and global network stability in the human cortex. *Sleep* 42.
- Maingret N, Girardeau G, Todorova R, Goutierre M, Zugaro M (2016) Hippocampo-cortical coupling mediates memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci* 19:959-64.
- Maingret V, Barthet G, Deforges S, Jiang N, Mulle C, Amédée T (2017) PGE2-EP3 signaling pathway impairs hippocampal presynaptic long-term plasticity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging* 50:13-24.
- Mak-McCully RA, Rolland M, Sargsyan A, Gonzalez C, Magnin M, Chauvel P, Rey M, Bastuji H, Halgren E (2017) Coordination of cortical and thalamic activity during non-REM sleep in humans. *Nat Commun* 8:15499.
- Gonzalez CE, Mak-McCully RA, Rosen BQ, Cash SS, Chauvel P., Bastuji H, Halgren E (2018) Theta bursts precede, and spindles follow, cortical and thalamic downstates in human NREM sleep. *J Neurosci* 38:9989-10001.
- Mander BA, Santhanam S, Saletin JM, Walker MP (2011) Wake deterioration and sleep restoration of human learning. *Current biology* 21:R183-R184.
- Mander BA, Zhu AH, Lindquist JR, Villeneuve S, Rao V, Lu B, Saletin JM, Ancoli-Israel S, Jagust WJ, Walker MP (2017) White Matter Structure in Older Adults Moderates the Benefit of Sleep Spindles on Motor Memory Consolidation. *J Neurosci* 37:11675-11687.

- Maris E, Oostenveld R (2007) Nonparametric statistical testing of EEG-and MEG-data. *J Neurosci Methods* 164:177-190.
- Marr D (1971) Simple memory: a theory of archicortex. *Philos T R Soc B* 262:23-81.
- Marrosu F, Portas C, Mascia MS, Casu MA, Fà M, Giagheddu M, Gessa GL (1995) Microdialysis measurement of cortical and hippocampal acetylcholine release during sleep-wake cycle in freely moving cats. *Brain research* 671:329-332.
- Marshall L, Molle M, Hallschmid M, Born J (2004) Transcranial direct current stimulation during sleep improves declarative memory. *J Neurosci* 24:9985-9992.
- Marshall L, Helgadóttir H, Mölle M, Born J (2006) Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* 444:610-613.
- Massimini M, Huber R, Ferrarelli F, Hill S, Tononi G (2004) The sleep slow oscillation as a traveling wave. *J Neurosci* 24:6862-6870.
- Mazza S, Gerbier E, Gustin MP, Kasikci Z, Koenig O, Toppino TC, Magnin M (2016) Relearn faster and retain longer: Along with practice, sleep makes perfect. *Psychological science* 27:1321-1330.
- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC (1995) Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev* 102:419.
- McDevitt EA, Duggan KA, Mednick SC (2015) REM sleep rescues learning from interference. *Neurobiology of learning and memory* 122:51-62.
- McCormick DA, McGinley MJ, Salkoff DB (2015) Brain state dependent activity in the cortex and thalamus. *Curr Opin Neurobiol* 31:133-140.
- McGraw KO, Wong SP (1992) A common language effect size statistic. *Psychol Bull* 111:361-365.
- McKenzie S, Eichenbaum H (2011) Consolidation and reconsolidation: two lives of memories? *Neuron* 71:224-233.
- McNaughton BL (2010) Cortical hierarchies, sleep, and the extraction of knowledge from memory. *Artif Intell* 174:205-214.
- Mednick SC, McDevitt EA, Walsh JK, Wamsley E, Paulus M, Kanady JC, Drummond SP (2013) The critical role of sleep spindles in hippocampal-dependent memory: a pharmacology study. *J Neurosci* 33:4494-4504.
- Melo B, Winocur G, Moscovitch M (1999) False recall and false recognition: n examination of the effects of selective and combined lesions to the medial temporal lobe/diencephalon and frontal lobe structures. *Cogn Neuropsychol* 16:343-359.
- Mendes RAV, Zacharias LR, Ruggiero RN, Leite JP, Moraes MFD, Lopes-Aguiar C (2019) Hijacking of hippocampal-cortical oscillatory coupling during sleep in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav* 15:106608.

- Merhav M, Karni A, Gilboa A (2015) Not all declarative memories are created equal: Fast Mapping as a direct route to cortical declarative representations. *Neuroimage* 117:80-92.
- Michaelian K, Sutton J (2013) Distributed Cognition and Memory Research: History and Current Directions. *Rev Phil Psych* 4:1-24.
- Mikutta C, Feige B, Maier JG, Hertenstein E, Holz J, Riemann D, Nissen C (2016) Phase-amplitude coupling of sleep slow oscillatory and spindle activity correlates with overnight memory consolidation. *J Sleep Res* 28:e12835.
- Miyamoto D, Hirai D, Murayama M (2017) The Roles of Cortical Slow Waves in Synaptic Plasticity and Memory Consolidation. *Front Neural Circuits* 11:92.
- Mölle M, Born J (2011) Slow oscillations orchestrating fast oscillations and memory consolidation. *Prog Brain Res* 193:93-110.
- Mölle M, Marshall L, Gais S, Born J (2002) Grouping of spindle activity during slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep. *J Neurosci* 22:10941-10947.
- Mölle M, Yeshenko O, Marshall L, Sara SJ, Born J (2006) Hippocampal sharp wave-ripples linked to slow oscillations in rat slow-wave sleep. *J Neurophysiol* 96:62-70.
- Mölle M, Eschenko O, Gais S, Sara SJ, Born J (2009) The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *Eur J Neurosci* 29:1071-1081.
- Mölle M, Bergmann TO, Marshall L, Born J (2011) Fast and slow spindles during the sleep slow oscillation: disparate coalescence and engagement in memory processing. *Sleep* 34:1411-1421.
- Morison RS, Bassett DL (1945) Electrical activity of the thalamus and basal ganglia in decorticate cats. *J. Neurophysiol* 8:309-314.
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Westmacott R, Grady C, McAndrews MP, Levine B, Black S, Winocur G, Nadel L (2005) Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *J Anat* 207:35-66.
- Moscovitch M, Nadel L, Winocur G, Gilboa A, Rosenbaum RS (2006) The cognitive neuroscience of remote episodic, semantic and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:179-190.
- Muckli L, Petro LS (2017) The Significance of Memory in Sensory Cortex. *Trends Neurosci* 40:255-256.
- Muehlroth BE, Sander MC, Fandakova Y, Grandy TH, Rasch B, Shing YL, Werkle-Bergner M (2019) Precise Slow Oscillation-Spindle Coupling Promotes Memory Consolidation in Younger and Older Adults. *Sci Rep* 9:1940.
- Müller GE, Pilzecker A (1900) Experimentelle Beiträge zur Lehre von Gedächtnis. *Z Psychol* 1: 1-300.
- Murty VP, Adcock RA (2014) Enriched encoding: reward motivation organizes cortical networks for hippocampal detection of unexpected events. *Cereb Cortex*. 24:2160-2168.

- Muzzio IA, Kentros C, Kandel E (2009) What is remembered? Role of attention on the encoding and retrieval of hippocampal representations. *J Physiol* 587:2837-2854.
- Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol* 7:217-227.
- Nadel L, Hubbach A, Gomez R, Newman-Smith K (2012) Memory formation, consolidation and transformation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 36:1640-1645.
- Ngo HV, Martinetz T, Born J, Mölle M (2013) Auditory closed-loop stimulation of the sleep slow oscillation enhances memory. *Neuron* 78:545-553.
- Ngo HV, Fell J, Staresina B (2020) Sleep spindles mediate hippocampal-neocortical coupling during long-duration ripples. *Elife* 9:e57011.
- Niethard N, Ngo HV, Ehrlich I, Born J (2018) Cortical circuit activity underlying sleep slow oscillations and spindles. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 115:E9220-E9229.
- Niknazar M, Krishnan GP, Bazhenov M, Mednick SC (2015) Coupling of Thalamocortical Sleep Oscillations Are Important for Memory Consolidation in Humans. *PLoS One* 10:e0144720.
- Nir Y, Staba RJ, Andrillon T, Vyazovskiy VV, Cirelli C, Fried I, Tononi G (2011) Regional slow waves and spindles in human sleep. *Neuron* 70:153-169.
- Norberg, A (2019) Chapter 13. Sense of self among among persons with advanced dementia. In: Wisniewski T, editor. *Alzheimer's Disease*. Brisbane (AU): Codon Publications; pp. 205-222.
- Norman KA, O'Reilly RC (2003) Modeling hippocampal and neocortical contributions to recognition memory: a complementary-learning-systems approach. *Psychological review* 110.
- Norman KA, Newman EL, Detre G (2007) A neural network model of retrieval-induced forgetting. *Psychol Rev* 114:887-953.
- Norman KA (2010) How hippocampus and cortex contribute to recognition memory: revisiting the complementary learning systems model. *Hippocampus* 20:1217–1227.
- Novitskaya Y, Sara SJ, Logothetis NK, Eschenko O (2016) Ripple-triggered stimulation of the locus coeruleus during post-learning sleep disrupts ripple/spindle coupling and impairs memory consolidation. *Learn Mem* 23:238-248.
- O'Neill J, Pleydell-Bouverie B, Dupret D, Csicsvari J (2010) Play it again: reactivation of waking experience and memory. *Trends Neurosci* 33:220-229.
- Ólafsdóttir HF, Bush D, Barry C (2018) The Role of Hippocampal Replay in Memory and Planning. *Curr Biol* 28:R37-R50.
- Olbrich E, Landolt HP, Achermann P (2013) Effect of prolonged wakefulness on electroencephalographic oscillatory activity during sleep. *J Sleep Res* 23:253-260.
- Oldfield RC (1971) The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9:97-113.



- Ong JL, Lo JC, Chee NI, Santostasi G, Paller KA, Zee PC, Chee MW (2016) Effects of phase-locked acoustic stimulation during a nap on EEG spectra and declarative memory consolidation. *Sleep Med* 20:88-97.
- Oudiette D, Antony JW, Creery JD, Paller KA (2013) The role of memory reactivation during wakefulness and sleep in determining which memories endure. *J Neurosci* 33:6672-6678.
- Pacheco D, Sánchez-Fibla M, Duff A, Principe A, Rocamora R, Zhang H, Axmacher N, Verschure PFMJ (2019) Coordinated representational reinstatement in the human hippocampus and lateral temporal cortex during episodic memory retrieval. *Nat Commun* 10:2255.
- Paller KA, Creery JD, Schechtman E (2020) Memory and sleep: How sleep cognition can change the waking mind for the better. *Annual Review of Psychology* 72.
- Papalambros NA, Santostasi G, Malkani RG, Braun R, Weintraub S, Paller KA, Zee PC (2017) Acoustic Enhancement of Sleep Slow Oscillations and Concomitant Memory Improvement in Older Adults. *Front Hum Neurosci* 11:109.
- Patterson K, Nestor PJ, Rogers TT (2007) Where do you know what you know? The representation of semantic knowledge in the human brain. *Nat Rev Neurosci* 8:976-987.
- Pavlidis C, Winson J (1989) Influences of hippocampal place cell firing in the awake state on the activity of these cells during subsequent sleep episodes. *J Neurosci* 9:2907-2918.
- Payne L, Sekuler R (2014) The importance of ignoring: Alpha oscillations protect selectivity. *Curr Dir Psychol Sci* 23:171-177.
- Perrault AA, Khani A, Quairiaux C, Kompotis K, Franken P, Muhlethaler M, Schwartz S, Bayer L (2019) Whole-Night Continuous Rocking Entrain Spontaneous Neural Oscillations with Benefits for Sleep and Memory. *Curr Biol* 29:402-411.
- Pérula de Torres LA, Fernández-García JA, Arias-Vega R, Muriel-Palomino M, Márquez-Rebollo E, Ruiz-Moral R (2005) Validación del cuestionario AUDIT para la identificación del consumo de riesgo y de los trastornos por el uso de alcohol en mujeres [Validation of the AUDIT test for identifying risk consumption and alcohol use disorders in women]. *Aten Primaria* 36:499-506.
- Peters KR, Smith V, Smith CT (2007) Changes in sleep architecture following motor learning depend on initial skill level. *J Cogn Neurosci* 19:817-829.
- Peyrache A, Khamassi M, Benchenane K, Wiener SI, Battaglia FP (2009) Replay of rule-learning related neural patterns in the prefrontal cortex during sleep. *Nat Neurosci* 12:919-926.
- Petzka M, Charest I, Balanos GM, Staresina BP (2021) Does sleep-dependent consolidation favour weak memories? *Cortex* 134:65-75.
- Pinho J, Marcut C, Fonseca R (2020) Actin remodeling, the synaptic tag and the maintenance of synaptic plasticity. *IUBMB Life*. 72:577-589.
- Place R, Farovik A, Brockmann M, Eichenbaum H (2016) Bidirectional prefrontal-hippocampal interactions support context-guided memory. *Nat Neurosci* 19:992-994.

- Plante DT, Goldstein MR, Cook JD, Smith R, Riedner BA, Rumble ME, Jelenchick L, Roth A, Tononi G, Benca RM, Peterson MJ (2016) Effects of partial sleep deprivation on slow waves during non-rapid eye movement sleep: A high density EEG investigation. *Clin Neurophysiol* 127:1436-1444.
- Poh JH, Chee MW (2017a) Degradation of neural representations in higher visual cortex by sleep deprivation. *Sci Rep* 7:45532.
- Poh JH, Chee MWL (2017b) Degradation of cortical representations during encoding following sleep deprivation. *Neuroimage*. 153:131-138.
- Pooresmaeili A, Bach DR, Dolan RJ (2014) The effect of visual salience on memory-based choices. *J Neurophysiol* 111:481-487.
- Potter KW, Huszar LD, Huber DE (2018) Does inhibition cause forgetting after selective retrieval? A reanalysis and failure to replicate. *Cortex* 104:26-45.
- Preston AR, Eichenbaum H (2013) Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Curr Biol* 23:R764-R773.
- Pyc MA, Rawson KA (2010) Why testing improves memory: mediator effectiveness hypothesis. *Science* 330:335.
- Qin YL, McNaughton BL, Skaggs WE, Barnes CA (1997) Memory reprocessing in corticocortical and hippocampocortical neuronal ensembles. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 352:1525-1533.
- R Core Team (2016) R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- Rainer G, Miller EK (2000) Effects of visual experience on the representation of objects in the prefrontal cortex. *Neuron* 27:179–189.
- Rasch B, Born J (2013) About sleep's role in memory. *Physiol Rev* 93:681-766.
- Rauchs G, Feyers D, Landeau B, Bastin C, Luxen A, Maquet P, Collette F (2011) Sleep contributes to the strengthening of some memories over others, depending on hippocampal activity at learning. *J Neurosci* 31:2563-2568.
- Ray LB, Sockeel S, Soon M, Bore A, Myhr A, Stojanoski B, Cusack R, Owen AM, Doyon J, Fogel SM (2015) Expert and crowd-sourced validation of an individualized sleep spindle detection method employing complex demodulation and individualized normalization. *Front Hum Neurosci* 9:507.
- Redish AD, Mizumori SJY (2015) Memory and decision making. *Neurobiol Learn Mem* 117:1-3.
- Redondo RL, Morris RG (2011) Making memories last: the synaptic tagging and capture hypothesis. *Nat Rev Neurosci* 12:17-30.
- Rihm JS, Diekelmann S, Born J, Rasch B (2014) Reactivating memories during sleep by odors: odor specificity and associated changes in sleep oscillations. *J Cogn Neurosci* 26:1806-1818.

- Ritchey M, Dolcos F, Cabeza R (2008) Role of amygdala connectivity in the persistence of emotional memories over time: an event-related fMRI investigation. *Cereb Cortex* 18:2494-2504.
- Ritchey M, Wing EA, LaBar KS, Cabeza R (2013) Neural similarity between encoding and retrieval is related to memory via hippocampal interactions. *Cereb Cortex* 23:2818–2828.
- Robertson EM (2018) Memory instability as a gateway to generalization. *PLoS Biol* 16:e2004633.
- Roediger HL, Karpicke JD (2006a) Test-enhanced learning: taking memory tests improves long-term retention. *Psychol Sci* 17:249-255.
- Roediger HL, Karpicke JD (2006b) The power of testing memory: basic research and implications for educational practice. *Perspect Psychol Sci* 1:181-210.
- Roediger HL 3rd, Karpicke JD (2018) Reflections on the Resurgence of Interest in the Testing Effect. *Perspect Psychol Sci* 13:236-241.
- Roediger HL, McDermott KB (1995) Creating false memories: remembering words not presented in lists. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 21:803
- Rohrer D, Taylor K, Sholar B (2010) Tests enhance the transfer of learning. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 36:233-239.
- Rotello CM, Macmillan NA, Hicks JL, Hautus MJ (2006) Interpreting the effects of response bias on remember-know judgments using signal detection and threshold models. *Mem Cognit* 34:1598-1614.
- Rowland CA (2014) The effect of testing versus restudy on retention: a meta-analytic review of the testing effect. *Psychol Bull* 140:1432-1463.
- Sadowski JH, Jones MW, Mellor JR (2016) Sharp-Wave Ripples Orchestrate the Induction of Synaptic Plasticity during Reactivation of Place Cell Firing Patterns in the Hippocampus. *Cell Rep* 14:1916-1929.
- Saletin JM, Goldstein AN, Walker MP (2011) The role of sleep in directed forgetting and remembering of human memories. *Cereb Cortex* 21:2534-2541.
- Samanta P, Mishra DP, Panigrahi A, Mishra J, Senapati LK, Ravan JR (2020) Sleep disturbances and associated factors among 2-6-year-old male children with autism in Bhubaneswar, India. *Sleep medicine* 67:77-82.
- Sara SJ (2000) Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learning & memory* 7:73-84.
- Sara SJ (2000) Strengthening the shaky trace through retrieval. *Nature Reviews Neuroscience* 1:212-213.
- Sawangjit A, Oyanedel CN, Niethard N, Salazar C, Born J, Inostroza M (2018) The hippocampus is crucial for forming non-hippocampal long-term memory during sleep. *Nature* 564:109-113.

Sayala S, Sala JB, Courtney SM (2006) Increased neural efficiency with repeated performance of a working memory task is information-type dependent. *Cereb Cortex* 16:609-617.

Schapiro AC, McDevitt EA, Chen L, Norman KA, Mednick SC, Rogers TT (2017) Sleep benefits memory for semantic category structure while preserving exemplar-specific information. *Sci Rep* 7.

Schoch SF, Cordi MJ, Rasch B (2017) Modulating influences of memory strength and sensitivity of the retrieval test on the detectability of the sleep consolidation effect. *Neurobiology of Learning and Memory* 145:181-189.

Schönauer M (2018) Sleep Spindles: Timed for Memory Consolidation. *Curr Biol* 28:R656-R658.

Schreiner T, Staudigl T (2020) Electrophysiological signatures of memory reactivation in humans. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2020 375:20190293.

Schreiner T, Doeller CF, Jensen O, Rasch B, Staudigl T (2018) Theta Phase-Coordinated Memory Reactivation Reoccurs in a Slow-Oscillatory Rhythm during NREM Sleep. *Cell Rep* 25:296-301.

Seibt J, Frank MG (2019) Primed to Sleep: The Dynamics of Synaptic Plasticity Across Brain States. *Front Syst Neurosci* 13:2.

Sekeres MJ, Moscovitch M, Winocur G (2017) Mechanisms of Memory Consolidation and Transformation. In: N. Axmacher and B. Rasch (eds.), *Cognitive Neuroscience of Memory Consolidation, Studies in Neuroscience, Psychology and Behavioral Economics*. Springer International Publishing Switzerland.

Sekeres MJ, Winocur G, Moscovitch M (2018) The hippocampus and related neocortical structures in memory transformation. *Neuroscience letters* 680:39-53.

Semon R (1904) *Die Mneme als erhaltendes Prinzip im Wechsel des organischen Geschehens* (German) (Engelmann, Leipzig, Germany, 1904).

Semon R (1923) *Mnemic Philosophy* (Allen and Unwin).

Shanahan LK, Gjorgieva E, Paller KA, Kahnt T, Gottfried JA (2018) Odor-evoked category reactivation in human ventromedial prefrontal cortex during sleep promotes memory consolidation. *Elife* 7:e39681.

Sharot T, Delgado MR, Phelps EA (2004) How emotion enhances the feeling of remembering. *Nat Neurosci* 7:1376-1380.

Shimizu RE, Connolly PM, Cellini N, Armstrong DM, Hernandez LT, Estrada R, Aguilar M, Weisend MP, Mednick SC, Simons SB (2018) Closed-Loop Targeted Memory Reactivation during Sleep Improves Spatial Navigation. *Front Hum Neurosci* 12:28.

Siapas AG, Wilson MA (1998) Coordinated interactions between hippocampal ripples and cortical spindles during slow-wave sleep. *Neuron* 21:1123-1128.

Siler J, Benjamin AS (2020) Long-term inference and memory following retrieval practice. *Mem Cognit* 48:645-654.

- Simons JS, Spiers HJ (2003) Prefrontal and medial temporal lobe interactions in long-term memory. *Nat Rev Neurosci* 4:637-648.
- Sio UN, Monaghan P, Ormerod T (2013) Sleep on it, but only if it is difficult: effects of sleep on problem solving. *Memory & cognition* 41:159-166.
- Sirota A, Csicsvari J, Buhl D, Buzsáki G (2003) Communication between neocortex and hippocampus during sleep in rodents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:2065-2069.
- Skaggs WE, McNaughton BL (1996) Replay of neuronal firing sequences in rat hippocampus during sleep following spatial experience. *Science* 271:1870-1873.
- Skelin I, Kilianski S, McNaughton BL (2019) Hippocampal coupling with cortical and subcortical structures in the context of memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem* 160:21-31.
- Snodgrass JG, Corwin J (1988) Pragmatics of measuring recognition memory: applications to dementia and amnesia. *J Exp Psychol Gen* 117:34-50.
- Sols I, DuBrow S, Davachi L, Fuentemilla L (2017) Event Boundaries Trigger Rapid Memory Reinstatement of the Prior Events to Promote Their Representation in Long-Term Memory. *Curr Biol* 27:3499-3504.
- Squire LR (1986) Mechanisms of memory. *Science* 232:1612-1619.
- Squire LR (2004) Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 82:171-177.
- Squire LR, Bayley PJ (2007) The neuroscience of remote memory. *Curr Opin Neurobiol* 17(2):185-196.
- Squire LR, Cohen NJ, Nadel L (1984) The medial temporal region and memory consolidation: a new hypothesis. In *Memory Consolidation: Psychobiology of Cognition*. (eds. Weingartner H, Parder ES) 185-210.
- Squire LR, Stark CEL, Clark RE (2004) The medial temporal lobe. *Annu Rev Neurosci* 27:279-306.
- Squire LR, Wixted JT (2011) The cognitive neuroscience of human memory since H.M. *Annu Rev Neurosci* 34:259-288.
- Hoddes, E., Zarcone, V., Smythe, H., Phillips, R., & Dement, W. C. (1973). Quantification of sleepiness: a new approach. *Psychophysiology*, 10(4), 431-436.
- Staresina BP, Bergmann TO, Bonnefond M, van der Meij R, Jensen O, Deuker L, Elger CE, Axmacher N, Fell J (2015) Hierarchical nesting of slow oscillations, spindles and ripples in the human hippocampus during sleep. *Nat Neurosci* 18:1679-1686.
- Staresina BP, Reber TP, Niediek J, Boström J, Elger CE, Mormann F (2019) Recollection in the human hippocampal-entorhinal cell circuitry. *Nat Commun* 10:1503.
- Starita F, Kroes MC, Davachi L, Phelps EA, Dunsmoor JE (2019) Threat learning promotes generalization of episodic memory. *Journal of Experimental Psychology: General* 148.

- Steinvorth S, Levine B, Corkin S (2005) Medial temporal lobe structures are needed to re-experience remote autobiographical memories: evidence from H.M. and W.R. *Neuropsychologia* 43:479-496.
- Stephoe A, Peacey V, Wardle J (2006) Sleep duration and health in young adults. *Arch Intern Med* 2006 166:1689-1692.
- Steriade M, Nuñez A, Amzica F (1993) Intracellular analysis of relations between the slow (< 1 Hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *J Neurosci* 13:3266-3283.
- Steriade M, Timofeev I, Grenier F (2001) Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J Neurophysiol* 85:1969-1985.
- Steriade M (2006) Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* 137:1087-1106.
- Sterpenich V, Albouy G, Boly M, Vandewalle G, Darsaud A, Balteau E, Maquet P (2007) Sleep-related hippocampo-cortical interplay during emotional memory recollection. *PLoS Biol* 5.
- Sterpenich V, Albouy G, Darsaud A, Schmidt C, Vandewalle G, Vu TTD, Maquet P (2009) Sleep promotes the neural reorganization of remote emotional memory. *Journal of Neuroscience* 29:5143-5152.
- Stickgold R, Walker MP (2013) Sleep-dependent memory triage: evolving generalization through selective processing. *Nat Neurosci* 16:139-145.
- St-Laurent M, Moscovitch M, Levine B, McAndrews MP (2009) Determinants of autobiographical memory in patients with unilateral temporal lobe epilepsy or excisions. *Neuropsychologia* 47:2211-2221.
- Sun L, Zhou H, Cichon J, Yang G (2020) Experience and sleep-dependent synaptic plasticity: from structure to activity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 375:20190234.
- Takashima A, Petersson KM, Rutters F, Tendolkar I, Jensen O, Zwarts MJ, Fernández G (2006) Declarative memory consolidation in humans: a prospective functional magnetic resonance imaging study. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103:756-761.
- Takashima A, Nieuwenhuis IL, Rijpkema M, Petersson KM, Jensen O, Fernández G (2007) Memory trace stabilization leads to large-scale changes in the retrieval network: a functional MRI study on associative memory. *Learning & Memory* 14:472-479.
- Takashima A, Nieuwenhuis IL, Jensen O, Talamini LM, Rijpkema M, Fernández G (2009) Shift from hippocampal to neocortical centered retrieval network with consolidation. *J Neurosci* 29:10087-10093.
- Takehara-Nashiuchi K (2020) Prefrontal–hippocampal interaction during the encoding of new memories. *Brain Neurosci Adv* 4.
- Talamini LM, Nieuwenhuis IL, Takashima A, Jensen O (2008) Sleep directly following learning benefits consolidation of spatial associative memory. *Learn Mem* 15:233-237.

- Tambini A, Berners-Lee A, Davachi L (2017a) Brief targeted memory reactivation during the awake state enhances memory stability and benefits the weakest memories. *Sci Rep* 7:15325.
- Tambini A, Rimmele U, Phelps EA, Davachi L (2017b) Emotional brain states carry over and enhance future memory formation. *Nat Neurosci* 20:271-278.
- Tamminen J, Payne JD, Stickgold R, Wamsley EJ, Gaskell MG (2010) Sleep spindle activity is associated with the integration of new memories and existing knowledge. *J Neurosci* 30:14356-14360.
- Tang W, Shin JD, Frank LM, Jadhav SP (2017) Hippocampal-prefrontal reactivation during learning is stronger in awake compared with sleep states. *Journal of Neuroscience* 37:11789-11805.
- Timofeev I, Chauvette S (2017) Sleep slow oscillation and plasticity. *Current opinion in neurobiology* 44:116-126.
- Timofeev I, Schoch SF, LeBourgeois MK, Huber R, Riedner BA, Kurth S (2020) Spatio-temporal properties of sleep slow waves and implications for development. *Curr Opin Physiol* 15:172-182.
- Tompary A, Davachi L (2017) Consolidation promotes the emergence of representational overlap in the hippocampus and medial prefrontal cortex. *Neuron* 96:228-241.
- Tompary A, Davachi L (2020) Schematic memories develop quickly, but are not expressed unless necessary. *Scientific reports* 10:1-17
- Tonegawa S, Pignatelli M, Roy DS, Ryan TJ (2015) Memory engram storage and retrieval. *Curr Opin Neurobiol* 35:101-109.
- Tononi G, Cirelli C (2003) Sleep and synaptic homeostasis: a hypothesis. *Brain research bulletin* 62:143-150.
- Tononi G, Cirelli C (2014) Sleep and the price of plasticity: from synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. *Neuron* 81:12-34.
- Touchette E, Mongrain V, Petit D, Tremblay RE, Montplaisir JY (2008) Development of sleep-wake schedules during childhood and relationship with sleep duration. *Arch Pediatr Adolesc Med* 162:343-349.
- Tse D, Langston R, Kakeyama M, Bethus I, Spooner P, Wood E, Witter M, Morris R (2007) Schemas and Memory Consolidation. *Science* 316:76-82.
- Tukker JJ, Beed P, Schmitz D, Larkum ME, Sachdev RNS (2020) Up and Down States and Memory Consolidation Across Somatosensory, Entorhinal, and Hippocampal Cortices. *Front Syst Neurosci* 14:22.
- Tyng CM, Amin HU, Saad MNM, Malik AS (2017) The Influences of Emotion on Learning and Memory. *Front Psychol* 8:1454.
- Tulving E (1972) Episodic and semantic memory. In: Tulving E, Donaldson W, editors. *Organization of memory*. New York: Academic Press; pp. 382-403.

Tulving E (1983) Ecphoric process in episodic memory. *Philos Trans R Soc Lond B* 302:361-370.

Urakami Y, Ioannides AA, Kostopoulos GK (2012) Sleep spindles – as a biomarker of brain function and plasticity. In I. H. Ajeena (Ed.) *Advances in clinical neurophysiology* (chapter 4).

van de Ven GM, Trouche S, McNamara CG, Allen K, Dupret D (2016) Hippocampal Offline Reactivation Consolidates Recently Formed Cell Assembly Patterns during Sharp Wave-Ripples. *Neuron* 92:968-974.

Van Dongen EV, Thielen JW, Takashima A, Barth M, Fernández G (2012) Sleep supports selective retention of associative memories based on relevance for future utilization. *PLoS One* 7:e43426.

Van Der Werf YD, Altena E, Schoonheim MM, Sanz-Arigita EJ, Vis JC, De Rijke W, Van Someren EJ (2009) Sleep benefits subsequent hippocampal functioning. *Nature neuroscience* 12:122-123.

van Kesteren MTR, Fernández G, Norris DG, Hermans EJ (2010) Persistent schema-dependent hippocampal-neocortical connectivity during memory encoding and postencoding rest in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:7550-7555.

van Kesteren MT, Ruiters DJ, Fernández G, Henson RN (2012) How schema and novelty augment memory formation. *Trends Neurosci* 35:211-219.

Verleger R, Rose M, Wagner U, Yordanova J, Kolev V (2013) Insights into sleep's role for insight: studies with the number reduction task. *Adv Cogn Psychol* 9:160-172.

Viard A, Lebreton K, Chételat G, Desgranges B, Landeau B, Young A, De La Sayette V, Eustache F, Piolino P (2010) Patterns of hippocampal-neocortical interactions in the retrieval of episodic autobiographical memories across the entire life-span of aged adults. *Hippocampus* 20:153-165.

Bero AW, Meng J, Cho S, Shen AH, Canter RG, Ericsson M, Tsai LH (2014) Early remodeling of the neocortex upon episodic memory encoding. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:11852-11857.

Voderholzer U, Piosczyk H, Holz J, Landmann N, Feige B, Loessl B, Kopasz M, Doerr JP, Riemann D, Nissen C (2011) Sleep restriction over several days does not affect long-term recall of declarative and procedural memories in adolescents. *Sleep Med* 12:170-178.

Walker S, Gaskell MG, Knowland VCP, Fletcher FE, Cairney SA, Henderson LM (2020) Growing up with interfering neighbours: the influence of time of learning and vocabulary knowledge on written word learning in children. *R Soc Open Sci* 7:191597.

Wamsley EJ, Shinn AK, Tucker MA, Ono KE, McKinley SK, Ely AV, Goff DC, Stickgold R, Manoach DS (2013) The effects of eszopiclone on sleep spindles and memory consolidation in schizophrenia: a randomized placebo-controlled trial. *Sleep* 36:1369-1376.

Wang S-H, Morris RG (2010) Hippocampal-neocortical interactions in memory formation, consolidation, and reconsolidation. *Annu Rev Psychol* 61:49-79.



- Wang B, Antony JW, Lurie S, Brooks PP, Paller KA, Norman KA (2019) Targeted Memory Reactivation during Sleep Elicits Neural Signals Related to Learning Content. *J Neurosci* 39:6728-6736.
- Warby SC, Wendt SL, Welinder P, Munk EG, Carrillo O, Sorensen HB, Jennum P, Peppard PE, Perona P, Mignot E (2014) Sleep-spindle detection: crowdsourcing and evaluating performance of experts, non-experts and automated methods. *Nat Methods* 11:385-392.
- Werth E, Achermann P, BORBÉLY A (1997) Fronto-occipital EEG power gradients in human sleep. *Journal of sleep research* 6:102-112.
- Wierzynski CM, Lubenov EV, Gu M, Siapas AG (2009) State-dependent spike-timing relationships between hippocampal and prefrontal circuits during sleep. *Neuron* 61:587-596.
- Wilhelm I, Diekelmann S, Molzow I, Ayoub A, Mölle M, Born J (2011) Sleep selectively enhances memory expected to be of future relevance. *J Neurosci* 31:1563-1569.
- Wilson MA, McNaughton BL (1994) Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265:676-679.
- Wiltgen BJ, Zhou M, Cai Y, Balaji J, Karlsson MG, Parivash SN, Li W, Silva AJ (2010) The hippocampus plays a selective role in the retrieval of detailed contextual memories. *Curr Biol* 20:1336-1344.
- Wimber M, Alink A, Charest I, Kriegeskorte N, Anderson MC (2015) Retrieval induces adaptive forgetting of competing memories via cortical pattern suppression. *Nat Neurosci* 18:582-589.
- Wing EA, Marsh EJ, Cabeza R (2013) Neural correlates of retrieval-based memory enhancement: an fMRI study of the testing effect. *Neuropsychologia* 51:2360-2370.
- Wing EA, Ritchey M, Cabeza R (2015) Reinstatement of individual past events revealed by the similarity of distributed activation patterns during encoding and retrieval. *J Cogn Neurosci* 27:679-691.
- Winocur G, Frankland PW, Sekeres M, Fogel S, Moscovitch M (2009) Changes in context-specificity during memory reconsolidation: selective effects of hippocampal lesions. *Learn Mem* 16:722-729.
- Winocur G, Moscovitch M (2011) Memory transformation and systems consolidation. *J Int Neuropsychol Soc* 17:766-780.
- Winocur G, Moscovitch M, Bontempi B (2010) Memory formation and long-term retention in humans and animals: convergence towards a transformation account of hippocampal-neocortical interactions. *Neuropsychologia* 48:2339-2356.
- Witkowski S, Schechtman E, Paller K (2020) Examining sleep's role in memory generalization and specificity through the lens of targeted memory reactivation. *Curr Opin Behav Sci* 33:86-91.
- Wu H, Stone W, Hsi X, Zhuang J, Huang L, Yin Y, Zhang L, Zhao Z (2010) Effects of Different Sleep Restriction Protocols on Sleep Architecture and Daytime Vigilance in

Healthy Men. Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca 59:821-829.

Xiao X, Dong Q, Chen C, Xue G (2016) Neural pattern similarity underlies the mnemonic advantages for living words. *Cortex* 79:99-111.

Xiao X, Dong Q, Gao J, Men W, Poldrack RA, Xue G (2017) Transformed Neural Pattern Reinstatement during Episodic Memory Retrieval. *J Neurosci* 37(11):2986-2998.

Xue G, Dong Q, Chen C, Lu Z, Mumford JA, Poldrack RA (2010) Greater neural pattern similarity across repetitions is associated with better memory. *Science* 330:97-101.

Xue G, Dong Q, Chen C, Lu ZL, Mumford JA, Poldrack RA (2013) Complementary role of frontoparietal activity and cortical pattern similarity in successful episodic memory encoding. *Cerebral Cortex* 23:1562-1571.

Yaffe RB, Kerr MS, Damera S, Sarma SV, Inati SK, Zaghoul KA (2014) Reinstatement of distributed cortical oscillations occurs with precise spatiotemporal dynamics during successful memory retrieval. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:18727-18732.

Yang G, Lai CS, Cichon J, Ma L, Li W, Gan WB (2014) Sleep promotes branch-specific formation of dendritic spines after learning. *Science* 344:1173-1178.

Yebra M, Galarza-Vallejo A, Soto-Leon V, Gonzalez-Rosa JJ, de Berker AO, Bestmann S, Oliviero A, Kroes MCW, Strange BA (2019) Action boosts episodic memory encoding in humans via engagement of a noradrenergic system. *Nat Commun* 10:3534.

Yoo SS, Hu PT, Gujar N, Jolesz FA, Walker MP (2007) A deficit in the ability to form new human memories without sleep. *Nature neuroscience* 10:385-392.

Yordanova J, Kirov R, Verleger R, Kolev V (2017) Dynamic coupling between slow waves and sleep spindles during slow wave sleep in humans is modulated by functional pre-sleep activation. *Sci Rep* 7:14496.

Zeek ML, Savoie MJ, Song M, Kennemur LM, Qian J, Jungnickel PW, Westrick SC (2015) Sleep Duration and Academic Performance Among Student Pharmacists. *Am J Pharm Educ* 79:63.

Zeineh MM, Engel SA, Thompson PM, Bookheimer SY (2003) Dynamics of the hippocampus during encoding and retrieval of face-name pairs. *Science* 299:577-580.

Zhang H, Fell J, Axmacher N. Electrophysiological mechanisms of human memory consolidation. *Nat Commun.* 2018;9(1):4103.

Zhang H, Fell J, Staresina BP, Weber B, Elger CE, Axmacher N (2015) Gamma power reductions accompany stimulus-specific representations of dynamic events. *Curr Biol* 25:635-640.

Zhang Y, Gruber R (2019) Can Slow-Wave Sleep Enhancement Improve Memory? A Review of Current Approaches and Cognitive Outcomes. *Yale J Biol Med.* 92:63-80.

Zhang J, Yetton B, Whitehurst LN, Naji M, Mednick SC (2020) The Effect of Zolpidem on Memory Consolidation Over a Night of Sleep. *Sleep* zsaa084.

Zhao D, Wang Y, Wang Q, Wang X (2019) Comparative analysis of different characteristics of automatic sleep stages. *Comput Methods Programs Biomed* 175:53-72.

Zola-Morgan S, Squire LR (1990) The neuropsychology of memory. Parallel findings in humans and nonhuman primates. *Ann N Y Acad Sci* 608:434-450.



***ANEXO I. Artículo en Scientific Reports (2020)***

---



# OPEN Weakly encoded memories due to acute sleep restriction can be rescued after one night of recovery sleep

Daniel Baena<sup>1,2</sup>, Jose L. Cantero<sup>1,2</sup>, Lluís Fuentemilla<sup>3,4</sup> & Mercedes Atienza<sup>1,2\*</sup>

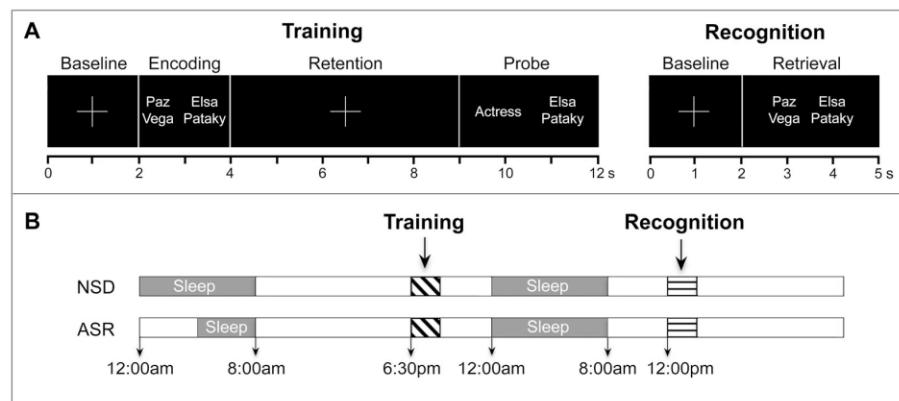
Sleep is thought to play a complementary role in human memory processing: sleep loss impairs the formation of new memories during the following awake period and, conversely, normal sleep promotes the strengthening of the already encoded memories. However, whether sleep can strengthen deteriorated memories caused by insufficient sleep remains unknown. Here, we showed that sleep restriction in a group of participants caused a reduction in the stability of EEG activity patterns across multiple encoding of the same event during awake, compared with a group of participants that got a full night's sleep. The decrease of neural stability patterns in the sleep-restricted group was associated with higher slow oscillation-spindle coupling during a subsequent night of normal sleep duration, thereby suggesting the instantiation of restorative neural mechanisms adaptively supporting cognition and memory. Importantly, upon awaking, the two groups of participants showed equivalent retrieval accuracy supported by subtle differences in the reinstatement of encoding-related activity: it was longer lasting in sleep-restricted individuals than in controls. In addition, sustained reinstatement over time was associated with increased coupling between spindles and slow oscillations. Taken together, these results suggest that the strength of prior encoding might be an important moderator of memory consolidation during sleep. Supporting this view, spindles nesting in the slow oscillation increased the probability of correct recognition only for weakly encoded memories. Current results demonstrate the benefit that a full night's sleep can induce to impaired memory traces caused by an inadequate amount of sleep.

Healthy sleep is essential for optimal cognitive functioning. It seems to play a complementary role in human memory. While some of the studies indicate that sleep disruption reduces hippocampal activation during encoding in the awake period, leading to impaired memory retrieval after one night of recovery sleep<sup>1,2</sup>; other studies show that sleep mostly facilitates the consolidation of weaker memories<sup>3–12</sup>, thereby suggesting that memory consolidation during sleep is adaptive and prioritizes memories most vulnerable to forgetting. However, whether normal sleep could have a restorative impact on memories that are weakly encoded due to insufficient sleep in the previous night remains unknown.

To address this question, we trained two groups of young healthy participants to associate faces of celebrities (Fig. 1A) after allowing a group of them to sleep normally for 8 h (normal sleep duration group; NSD), and after limiting sleep to 4 h by applying a bedtime delay procedure in another group (acute sleep restriction group; ASR) (Fig. 1B). To account for whether a recovery full night's sleep influenced memory consolidation as a function of their strength, participants performed a recognition task one day after training. The simultaneous acquisition of EEG activity during all experimental sessions (including training, sleep, and retrieval) and the implementation of a time-resolved neural similarity analysis at training and retrieval<sup>13,14</sup> allowed us to test several predictions.

Firstly, we addressed whether sleep restriction has an impact on strength of memories encoded in the subsequent awake period. Neural stability has been proposed to provide an index of memory strength<sup>15–17</sup> that can

<sup>1</sup>Laboratory of Functional Neuroscience, Pablo de Olavide University, Seville, 41013, Spain. <sup>2</sup>CIBERNED, Network Center for Biomedical Research in Neurodegenerative Diseases, Madrid, Spain. <sup>3</sup>Cognition and Brain Plasticity Group, Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL), Hospitalet de Llobregat, 08907, Spain. <sup>4</sup>Department of Cognition, Development and Educational Psychology, University of Barcelona, Barcelona, 08035, Spain. \*email: [matirui@upo.es](mailto:matirui@upo.es)



**Figure 1.** An overview of the memory task and experimental protocol. **(A)** Schematic illustration of the trial structure during the training and recognition phase. In the training task, participants are presented with two famous faces for 2 s. In the trial example, faces of Paz Vega and Elsa Pataky were shown together. After a retention period of 5 s, participants are asked to indicate if the profession and face correspond with the faces they have previously encountered. In the recognition task, participants must indicate whether or not they have seen this particular combination of faces. **(B)** Participants were trained in the evening (6:30 pm) following a night of either normal sleep duration (NSD; from 12:00 am to 8:00 am) or acute sleep restriction (ASR; from 4:00 am to 8:00 am). Memory recognition was tested at noon (12:00 pm) after a regular night of sleep (from 12:00 am to 8:00 am). EEG was recorded during sleep in the two consecutive nights as well as during the training and recognition task.

be quantified by the degree to which neural patterns elicited by a given stimulus persist over repeated presentations<sup>16</sup>. Using functional magnetic resonance imaging (fMRI), previous research has shown that neural patterns in the higher visual cortex<sup>18</sup> and regions that feed into the hippocampus<sup>19</sup> are less stable across repetitions following total sleep deprivation. Accordingly, we hypothesized that sleep restriction would also impact the ability of the ASR group to elicit strong neural representations over repeated presentations of the same encoded pair of faces, and that this would be reflected as a decrease in the item-related neural representational stability when compared to the NSD group.

Secondly, we examined whether the interplay of neural oscillations supporting memory consolidation during sleep is associated with participants' ability to elicit stable EEG activity patterns across encoding repetitions and with their capacity of correctly recognizing learned associations the next day. To this aim, we analyzed the temporal grouping of fast spindles (SPs; 13–16 Hz) by the depolarized up-state of slow oscillations (SOs; 0.5–4 Hz) during slow-wave sleep (SWS), which has been proposed as a key mechanism of overnight memory consolidation<sup>20–24</sup>. In particular, we tested whether the degree of SO-SP coupling during SWS is associated with the strength of memory encoding during the previous awake period, and to what extent this association predicts performance in the recognition task. Based on the assumption that sleep preferentially consolidates memories that have been poorly encoded during the previous waking period<sup>3,4,7,8</sup>, we hypothesized that the capacity of SO-SP coupling to predict memory recognition would be a function of prior encoding strength.

Finally, just as reactivation of newly encoded memory traces in the sleeping brain has been demonstrated to help us retain memories<sup>25</sup>, neural reactivation of encoding patterns during remembering also has been proven to facilitate retrieval<sup>26</sup>. However, evidence linking memory consolidation processes operating during sleep with subsequent reactivation of encoding activity patterns during retrieval is lacking. To address this question, we investigated the relationship between the degree of SO-SP coupling during the night following training and the extent of encoding-retrieval pattern similarity during successful memory recognition the next morning. Building on accumulated evidence that memory consolidation during sleep involves a gradual transformation and integration of representations in neocortical networks<sup>27,28</sup>, we hypothesized that more precise temporal coordination of SPs by SOs would be associated with decreased reactivation of encoding-related EEG patterns at retrieval.

## Materials and Methods

**Participants.** Twenty-seven University students [age  $21.8 \pm 2.6$  (mean  $\pm$  SD), range 18–27 yr, 15 females] participated in the study. They had normal or corrected-to-normal vision, regular sleep habits confirmed by a structured interview and sleep-diaries over one week prior to participation in the experiment, and no history of neurological and/or psychiatric diseases. All participants gave informed and written consent to participate in the study. The experimental protocol in this study was reviewed, approved, and carried out according to the guidelines of the Ethical Committee for Human Research at the Pablo de Olavide University according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki.



**Experimental paradigm.** The experimental paradigm used in the present study has been described in detail elsewhere<sup>29,30</sup>. Task timing and stimulus delivery were controlled by Presentation<sup>®</sup> software (Neurobehavioral Systems, Inc.).

During the training session (Fig. 1A, left panel), participants were instructed to perform a semantic/perceptual-matching task, during which they were presented with 48 pairs of famous people's faces of the same gender. Celebrities with the same profession were presented intermixed with celebrities of different profession in 8 consecutive blocks. Each pair was repeated 4 times in alternating blocks in a random fashion. Following the face pair presentation for 2 s, subjects were trained to maintain faces and their professions for 5 s while fixating on a cross in the center of the screen. Next, one face and one profession (probe stimuli) were presented for 3 s. Participants were then asked to respond by pressing the corresponding button on the response box (Cedrus<sup>®</sup>, model RB-530, Cedrus Corporation, San Pedro, CA, USA) whether the face and profession, on the left or right side, corresponded to the study face in that particular position. They were forced to give a different response in each repeated trial, which guaranteed that their attention was focused on the relevant information during the encoding and retention phases. Importantly, participants were informed that memory for face-face associations would be tested the following morning, since previous evidence suggests that sleep facilitates retention of associative memories based on relevance for future use<sup>31–36</sup>.

During the recognition task (Fig. 1A, right panel), all faces were presented both coupled with the same face as in the training phase (intact condition), and recombined with a different face (rearranged condition), while controlling that the rearrangement maintained the gender and semantic context (same or different profession) of the training phase. Each face appeared either in one condition or the other in two different blocks (24 pairs per block were intact and the other 24 rearranged). Participants were asked to respond as fast and accurately as possible as to whether or not the two faces had been presented together during the training phase.

**Experiment design and procedure.** The experimental protocol is illustrated in Fig. 1B. All participants were trained in the evening (18:30 h), under conditions of either normal sleep duration (NSD; from 12:00 h to 8:00 h; N = 13) or acute sleep restriction (ASR; from 4:00 h to 8:00 h; N = 14) the night before. During the ASR session, participants were allowed to read and watch videos while a technician observed them to prevent them from sleeping. Participants were instructed to refrain from napping from the week prior to the first experimental session until the end of the experiment, aspect that was corroborated by sleep diaries.

Recognition memory for paired associates was tested the next morning after a full night's sleep. We avoided the inclusion of a memory test after repeated encoding because retrieval practice has proven to be more effective than repeated study<sup>37</sup> and equally effective as sleep<sup>38</sup> for improving long-term memory. EEG recordings were collected the night before and after training, as well as during the training and recognition phase. Only the night following training was analyzed for the purpose of the present study.

**EEG acquisition.** EEG data were collected from 59 scalp electrodes (Grass, USA) referenced to linked mastoids and positioned according to the extended International 10–20 system (Fig. S1). Additional electrodes were used to distinguish between vertical and horizontal eye movements and to monitor submental muscle tone. EEG recordings were amplified (BrainAmp MR, Brain Vision<sup>®</sup>), bandpass-filtered between 0.1–100 Hz, and sampled at 250 Hz.

**Behavioral data analysis.** Subjective sleepiness levels were assessed just before starting the training task with the Epworth Sleepiness Scale<sup>39</sup>. Sustained attention with repeated presentation was also evaluated as in Alberca-Reina *et al.*<sup>30</sup>. Particularly, we analyzed false alarms in two or more consecutive trials, anticipations (reaction times -RT- shorter than 300 ms), long delays (RT longer than 2500 ms), and intra-subject variability of RT to correctly recognized face pairs calculated with the intra-individual coefficient of variation (ICV; the ratio between the intra-individual standard deviation and the individual mean). Finally, task performance was measured across repeated study by computing the mean RT for hits, as well as the hit rate and the false alarm rate.

Behavior during the recognition task was assessed on the basis of different indices including hit, correct rejection, miss, and false-alarm rates. The  $d'$  index was obtained by subtracting the z-score for the false-alarm rate from the z-score for the hit rate<sup>40</sup>.

**EEG preprocessing.** Extracerebral artifacts were partially removed from EEG signals by applying independent component analysis (Infomax algorithm) as implemented in the BrainVision Analyzer software v. 1.05 (Brain ProductsV<sup>®</sup> GmbH). The remaining noisy EEG epochs were manually rejected by visual inspection. Artifact-free EEG epochs were transformed into the common average ref.<sup>41</sup>, and band-pass filtered (0.5–30 Hz) using a finite impulse response filter with a Kaiser window (order = 1326). EEG data were then epoched into 1 s segments relative to onset presentation of each paired associate during both the training and recognition phase. For each participant, epoched trials were further classified as correctly remembered or forgotten during the recognition task. We originally planned to investigate whether semantic congruence (same vs. different profession) was a modulating factor of the main hypotheses of the study. Unfortunately, the number of available artifact-free EEG trials did not allow us to address this issue. Supplementary Table S1 shows the mean number (and standard deviation) of artifact-free EEG trials used to address group differences (based on remembered paired associates) and differences between subsequently remembered and forgotten paired associates for every repetition during training and retrieval. In order to make the remembered and forgotten conditions comparable in terms of signal-to-noise ratio, the number of remembered face-face pairs was matched with the number of forgotten pairs.

**Spatiotemporal EEG pattern similarity at encoding and retrieval.** To determine the degree of similarity between EEG patterns, we adopted the spatiotemporal pattern similarity (STPS) approach developed by Lu and colleagues<sup>13</sup>. Spatiotemporal vectors for each paired associate of interest were constructed from the epoched

EEG data depending on the tested hypothesis. For each single trial, the vector included the mean EEG voltage from one of the six regions as representative of spatial features (see Fig. S1) and a sliding window of 200 ms (50 time points) in time steps of one time point as representative of temporal features. Finally, the data were grouped into 20 ms bins, resulting in the 40 time points. The degree of EEG similarity between trials was calculated with Pearson's correlation coefficients, which have shown to be insensitive to the absolute amplitude and variance of the EEG response. The correlation coefficients were then converted to Fisher's  $z$  scores for subsequent statistical analyses.

This approach was specifically adapted to assess the following hypotheses. Firstly, we tested whether reinstatement of EEG activity patterns across repetitions of the 48 paired associates (content-specific STPS) during successful encoding was greater in the NSD group than in the ASR group, as previously reported following a night of total sleep deprivation<sup>19</sup>. Similarity analysis was applied to EEG patterns associated with the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> repetition, with the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> repetition, and with the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> repetition of the same face-face pair across all paired associates. This was done for subsequently remembered and forgotten pairs, separately. Although our approach is equivalent to that proposed by Lu *et al.*<sup>13</sup>, results derived from each element of the diagonal matrix were not averaged. This procedure allowed us to determine the required number of repetitions for identifying group differences in the stability of EEG patterns with repeated study and the contribution of such stability to recognition memory.

Secondly, if the stability of neural representations during encoding is negatively affected by sleep restriction, the fidelity of reinstatement associated with successful encoding should be reduced in the ASR group in line with previous evidence<sup>42</sup>, unless consolidation during sleep has the potential to strengthen poorly encoded memories<sup>3,5,7,8</sup>. In the latter case, cortical reinstatement revealed by the similarity between the EEG activity elicited by the 4<sup>th</sup> repetition of paired associates at encoding and the same paired associates presented at retrieval (i.e., intact face-face pairs) would be comparable between the two groups. Alternatively, if sleep promotes reorganization of new memory representations over distributed brain circuits<sup>27,28</sup>, the ASR group would show a lower degree of similarity between encoding and retrieval activity patterns as compared with the NSD group. This analysis was also performed for remembered and forgotten paired-associates, separately.

**Analysis of sleep structure.** Experienced researchers manually scored sleep following training in individual 30-s epochs according to the guidelines of the American Academy of Sleep Medicine<sup>43</sup>. Total sleep time (TST), sleep onset latency (SOL), R (REM sleep) latency, and the duration and percentage of sleep stages (N1, N2, N3, R) based on the TST were determined. SOL was the time from lights out to the first epoch of stage N1, and R latency was the time from SOL to the first epoch of R sleep. Finally, sleep efficiency was also computed as the percentage of time sleeping as a function of the time in bed.

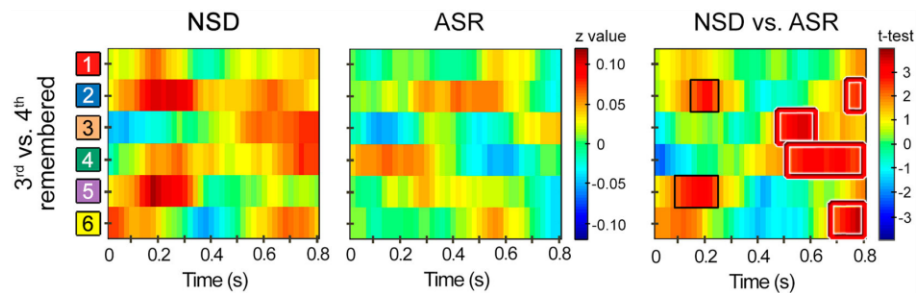
**Coupling between SPs and SOs.** First, SOs were automatically identified over frontal and frontocentral sites (F3, F1, Fz, F2, F4, FC1, FC2, Cz) in stage N3 using a standard algorithm described elsewhere<sup>44</sup>. SPs were also identified in stage N3 over frontocentral (F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8) and centroparietal sites (TP7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz, P2, P4, P6, P8). We focused on fast SPs (13–16 Hz) because they have been more consistently related to memory consolidation than slow SPs (9–12 Hz)<sup>45,46</sup>, and have shown strong phase synchronization with the depolarizing up-state of SOs<sup>21–24,47,48</sup>. Further details about the identification of SOs and fast SPs can be found in Supplementary Methods S1.

The SO-SP coupling was determined using the approach developed by Mölle and colleagues<sup>48</sup>. Briefly, event correlation histograms of fast SPs were referenced to the negative half-wave peaks of the SOs using 6 s windows with 3 s offsets and a bin size of 48 ms. For SP counts, SP peaks and troughs of all detected SPs were computed from all EEG electrodes used for either frontocentral or centroparietal SPs identification. SP counts in each time bin were divided by the number of SOs, and then divided by the bin width to obtain the event rate per second (Hz). The resulting signal was baseline corrected after applying mean centering to each EEG electrode.

**Statistical analysis.** We first evaluated whether behavioral indices and sleep parameters corresponding to the night following memory acquisition deviated from normality by applying the Kolmogorov-Smirnov test with the Lilliefors correction. Depending on whether or not normality could be assumed, group differences were evaluated by applying either the Student's  $t$ -test or the Mann-Whitney  $U$  test, respectively. In all cases, Bonferroni correction was used to counteract the multiple testing problem.

Paired  $t$ -tests were applied to assess differences between STPS obtained during the training and recognition phase associated with remembered and forgotten paired-associates, while unpaired  $t$ -tests were used to evaluate group differences. We further used linear regression analysis to investigate whether SO-SP coupling during the night of recovery sleep was associated with both the stability of neural representations indexed by STPS across repetitions during training and the magnitude of encoding-retrieval STPS (STPS<sub>E-R</sub>) during the recognition task. To control for multiple testing, we applied a nonparametric statistical method based on cluster-level randomization testing (with 10,000 randomizations) that controls the family-wise error (FWE) rate<sup>49</sup>. This method is implemented in the FieldTrip toolbox (<http://www.fieldtriptoolbox.org/>). Further details about this procedure can be found in Supplementary Methods S2. For all results, we further report the effect size and its 95% confidence interval ( $CI_{0.95}$ ) based on bootstrapping resampling (for more details, see Supplementary Methods S3).

Finally, we applied one-level random intercept mixed-effects logistic regression models to evaluate whether the probability of correctly recognizing a face-face pair following a night of recovery sleep was a function of encoding strength (i.e., encoding STPS), mechanisms of active systems consolidation processes during sleep (i.e., SO-SP coupling), and reinstatement of encoding-related activity (STPS<sub>E-R</sub>). All non-binary predictor variables were standardized and mean-centered. A variance inflation factor greater than 5 was used as an indicator of multicollinearity<sup>50</sup>. We started with a model including one fixed effect and subjects as a random effect, and next



**Figure 2.** Effect of ASR on STPS across repeated study at encoding of subsequently remembered paired-associates. Within-subjects STPS, expressed as averaged z-values, between the encoding EEG activity patterns elicited by the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> repetition of subsequently remembered paired-associates in the recognition task performed by the NSD group and the ASR group. The x-axis represents time, and the y-axis is the spatial locations shown in Fig. S1. The statistics of contrasting STPS between groups (NSD vs. ASR) is shown in the right panel. The red and black squares refer to significant clusters showing greater encoding STPS for the NSD group compared to the ASR group that either survived or not FWE correction, respectively.

continued adding fixed effects in a stepwise fashion. We selected the model with the lowest AIC value (Akaike information criterion). The regression coefficients were tested for significance with the Wald test<sup>51</sup>, and transformed to odds ratios (ORs) and their 95% confidence intervals ( $CI_{0.95}$ ) for reporting purposes. These analyses were conducted using the lme4 procedure implemented in R v3.0.1<sup>52,53</sup>.

## Results

**Effects of sleep restriction on recognition memory.** Sleepiness and attention during training were not affected by the sleep manipulation applied in the night before (Supplementary Results S1 and Table S2).

During the recognition task, the ASR group showed a higher hit rate ( $0.68 \pm 0.11$ ) compared with the NSD group ( $0.59 \pm 0.15$ ). Although the difference did not reach statistical significance it cannot be completely discarded because the effect size was significant ( $t_{(25)} = 1.82$ ,  $p = 0.08$ ,  $d = 0.68$ ,  $CI = [0.63 \ 1.75]$ ,  $CL = 0.50$ ). The same happened with the false alarm rate (NSD:  $44.7 \pm 19.0$ ; ASR:  $38.8 \pm 10.9$ ;  $t_{(25)} = 1.01$ ,  $p = 0.32$ ,  $d = 0.38$ ,  $CI = [0.02 \ 2.05]$ ,  $CL = 0.27$ ), which likely contribute to explain why the two groups showed comparable memory accuracy ( $d$ ) during the recognition phase following a regular night of sleep (NSD:  $0.61 \pm 0.52$ ; ASR:  $0.53 \pm 0.32$ ;  $t_{(25)} = 0.53$ ,  $p = 0.6$ ,  $d = 0.2$ ,  $CI = [-0.33 \ 1.28]$ ,  $CL = 0.15$ ).

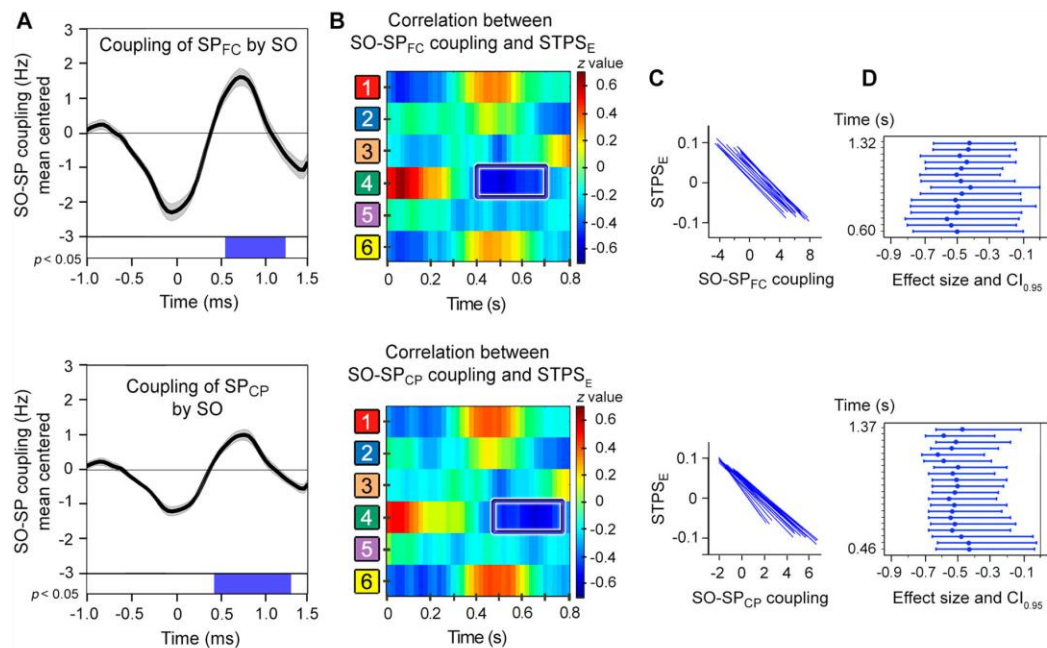
**Effects of sleep restriction on encoding strength.** The primary research question of the present study was to test whether sleep restriction impaired the memory strength of the novel encoded associations during the subsequent awake period. In line with this hypothesis, the ASR group of participants, when compared to the NSD group, showed a reduction of the stability of neural patterns during the repeated encoding of the same paired associates (Fig. 2). More concretely, encoding STPS was higher in the NSD group in two time windows at stimulus onset, an earlier one, at around 100–300 ms, over right frontal and left parietal regions did not survive FWE correction but the size effect based on the mean of the cluster was significant ( $t_{(25)} = 3.06$ ,  $p_{uncorrected} = 0.005$ ,  $d [CI_{0.95}] = 1.16 [1.10 \ 1.21]$ ,  $CL = 0.84$ ). In addition, a later time window from stimulus onset, at around 500–800 ms, over the right frontal, right parietal, and bilateral central locations survived multiple correction testing ( $t_{(25)} = 3.46$ ,  $p_{cluster-corrected} = 0.024$ ,  $d [CI_{0.95}] = 1.602 [1.601 \ 1.603]$ ,  $CL = 1.16$ ). Interestingly, only stability of neural patterns in the later time window was determinant of subsequent recognition memory (Supplementary Results S2 and Fig. S2 and S3).

**Relationship between encoding strength and SO-SP coupling.** We next asked whether the stability of neural response patterns elicited by repeated encoding of the same stimuli was associated with the interplay of sleep oscillations associated to memory consolidation. No significant correlations were found between the encoding STPS and the suppression of fast SPs during the down-state of SOs. However, one temporal cluster emerged when these correlations were limited to the up-state interval, but only for paired associates that were successfully recognized (Fig. 3). These correlations were negative over right central regions between 400–600 ms for frontocentral SPs ( $-0.54 < r_{(25)} < -0.43$ ,  $0.004 < p_{uncorrected} < 0.026$ ) and between 500–700 ms for centroparietal SPs ( $-0.53 < r_{(25)} < -0.42$ ,  $0.004 < p_{uncorrected} < 0.029$ ). Although the clusters did not survive multiple correction testing, the effect sizes were statistically significant (frontocentral SPs:  $-1.06 < [CI_{0.95}] < -0.03$ ; centroparietal SPs:  $-1.09 < [CI_{0.95}] < -0.01$ ) and covered part of the cluster where the NSD group showed greater STPS for remembered events compared to the ASR group during late encoding.

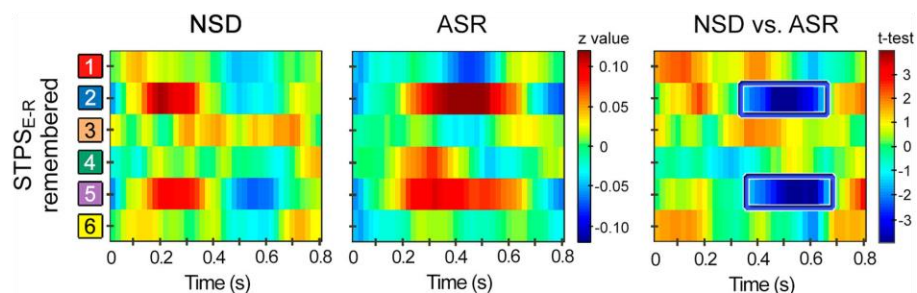
In addition, we explored if the effects of sleep restriction were appreciated in the macrostructure and microstructure of sleep in the subsequent night, but no significant effects were found (Supplementary Results S3, Table S3, Table S4, and Fig. S4).

**Relationship between SO-SP coupling and reinstatement of encoding-related EEG patterns during retrieval.** Reinstatement of encoding-related activity during retrieval (STPS<sub>E-R</sub>) was evaluated by



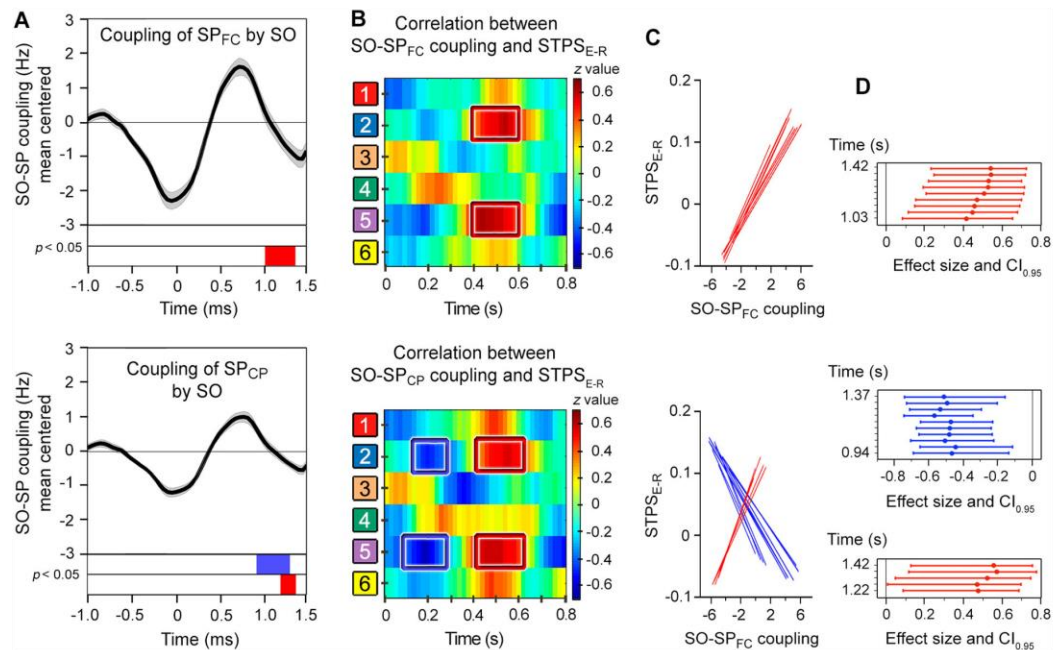


**Figure 3.** Contribution of encoding STPS to SO-SP coupling during SWS in the recovery sleep night. (A) Event correlation histogram between SO and fast SPs localized over frontocentral (top) and centroparietal electrodes (bottom) for all participants. The blue box indicates the time interval where SO-SP coupling was negatively correlated with the encoding STPS ( $p_{uncorrected} < 0.05$ ). (B) Z transformation of Pearson correlation coefficients between SO-SP coupling and the encoding STPS (3<sup>rd</sup> vs. 4<sup>th</sup> repetition) for remembered paired-associates at one representative time point of the SO upstate (1.03 s for both frontocentral and centroparietal SPs). The blue square refers to the cluster showing negative correlation ( $p_{uncorrected} < 0.05$ ). (C) Regression slopes of significant correlations for both frontocentral (top) and centroparietal SPs (bottom). (D) Effect sizes (Pearson's  $r$ ) and  $CI_{0.95}$  of significant correlations.



**Figure 4.** Effect of ASR on encoding-retrieval STPS for remembered paired-associates. Within-subjects STPS, expressed as averaged z-values, between the EEG activity patterns elicited by the 4<sup>th</sup> repetition of paired associates at encoding and the same paired associates presented at retrieval for remembered associations in the recognition task performed by the NSD group and the ASR group one day after training. The x-axis represents time, and the y-axis the spatial locations shown in Fig. S1. The statistics of contrasting STPS between groups (NSD vs. ASR) are shown in the right panel. The blue squares refer to significant clusters where the ASR group showed greater encoding-retrieval STPS compared to the NSD group after applying FWE correction.

estimating the STPS between the EEG activity associated with the 4<sup>th</sup> presentation of paired associates at encoding and the EEG activity elicited by the same pairs presented at retrieval. The two groups showed a similar pattern of similarity between encoding and retrieval over right frontal and left posterior regions at approximately 150–350 ms after stimulus onset (Fig. 4). However, the ASR group reinstated this pattern of activity for a longer period,



**Figure 5.** The relationship between SO-SP coupling during post-training sleep and encoding-retrieval STPS. (A) Event correlation histogram between frontocentral SOs and fast SPs localized over frontocentral (top) and centroparietal electrodes (bottom) averaged across all participants. The blue and red boxes indicate the time intervals where SO-SP coupling was negatively and positively correlated with the encoding-retrieval STPS, respectively. Note that correlations were significant in the up-state-to-down-state transition, although they did not survive multiple testing ( $p_{uncorrected} < 0.05$ ). (B) Pearson correlation coefficients between SO-SP coupling and the encoding-retrieval STPS for remembered paired-associates at one representative time point of the SO up-state (1.32 s for both frontocentral and centroparietal SPs). The blue and red squares refer to clusters showing significant negative and positive correlations that did not survive FWE correction ( $p_{uncorrected} < 0.05$ ). (C) Regression slopes of significant correlations for both frontocentral (top) and centroparietal SPs (bottom). (D) Effect sizes (Pearson's  $r$ ) and  $CI_{0.95}$  of significant correlations.

up to approximately 700 ms (Fig. 4, right panel). Indeed, the ASR group showed greater STPS<sub>E-R</sub> than the NSD group over right anterior and left posterior regions from about 340 to 700 ms ( $t_{(25)} = -4.98$ ,  $p_{cluster-corrected} = 0.007$ ,  $d [CI_{0.95}] = -1.752 [-1.750 - 1.753]$ ,  $CL = 1.28$ ). The standardized mean difference was of huge magnitude, so that the probability that a sleep-restricted individual showed higher STPS<sub>E-R</sub> than a control participant was almost 90%. Importantly, the STPS<sub>E-R</sub> also contributed in explaining variations in memory performance across all participants (Supplementary Results S4 and Fig. S5).

We next sought to address the third main question of the present study, whether the degree of SO-SP coupling during the night of recovery sleep was associated to memory reinstatement during retrieval in the day after. Results showed that the SO-SP coupling across participants, particularly in the upstate-to-downstate transition, was associated to neural similarity measured between remembered events (but not between forgotten ones) over right frontal and left parietal regions in two different time intervals (Fig. 5A–C). Specifically, we found negative correlations at 100–300 ms for centroparietal SPs ( $-0.57 < r_{(25)} < -0.43$ ,  $0.023 < p_{uncorrected} < 0.001$ ) but positive correlations at 400–600 ms for both frontocentral ( $0.44 < r_{(25)} < 0.60$ ,  $0.02 < p_{uncorrected} < 0.0007$ ) and centroparietal SPs ( $0.48 < r_{(25)} < 0.60$ ,  $0.1 < p_{uncorrected} < 0.001$ ). Although these results did not survive FWE correction, the effect sizes shown in Fig. 5D were statistically significant (frontocentral SPs:  $0.09 < [CI_{0.95}] < 0.76$ ; centroparietal SPs for negative cluster:  $-0.73 < [CI_{0.95}] < -0.11$ ; centroparietal SPs for positive cluster:  $0.01 < [CI_{0.95}] < 0.13$ ).

**Contribution of encoding strength, SO-SP coupling and reinstatement of encoding processes during retrieval to recognition memory.** Finally, we wanted to know the extent to which the probability of correct recognition was influenced by the interaction of encoding strength with the SO-SP coupling during the recovery night, and with the reinstatement of encoding-related activity during retrieval. To assess this issue, we implemented a mixed-effects logistic regression analysis. This approach allows introducing random effects to capture variation across subjects. More concretely, recognition memory was modeled as a binary outcome with (i) **encoding STPS** (i.e., the mean of the cluster where encoding STPS was higher in the NSD group than in the ASR group), (ii) **temporal grouping of SPs by the up-state of SOs**, (iii) **STPS<sub>E-R</sub>** either in the early or late time windows where the two groups showed similar and different degree of cortical reinstatement

respectively, and (iv) **interaction terms** as fixed effects (model including early STPS<sub>E-R</sub>:  $N = 1620$ ,  $AIC = 1591.8$ ,  $\log\text{-likelihood} = -785.9$ ; model including late STPS<sub>E-R</sub>:  $N = 1620$ ,  $AIC = 1586.9$ ,  $\log\text{-likelihood} = -784.4$ ). Importantly, the variance inflation factor for all predictors in the two models, including interaction terms, were below 1.52, which indicates low correlation between variables.

Results showed that the probability of correct recognition was predicted by increased encoding STPS ( $OR = 2.56$  [1.85 2.75],  $p < 10^{-16}$ ), increased early STPS<sub>E-R</sub> ( $OR = 7.79$  [6.16 9.84],  $p < 10^{-16}$ ) and increased late STPS<sub>E-R</sub> ( $OR = 5.21$  [4.12 6.57],  $p < 10^{-16}$ ). The degree of SO-SP coupling also enhanced the probability of correctly recognizing a face-face pair, but this association was moderated by prior encoding strength and reinstatement during retrieval as suggested by the three-way interactions. Accordingly, under conditions of weak encoding, as in the ASR group, the SO-SP coupling enhanced the probability of correct recognition if the degree of reinstatement of encoding-related activity was high at either early ( $OR = 0.73$  [0.55 0.96],  $p = 0.02$ ) or late time intervals ( $OR = 1.60$  [1.08 2.39],  $p = 0.02$ ). But if encoding of memory was strong, as in the NSD group, reinstatement of previous encoding processes contributed to increase the probability of correct recognition regardless of SO-SP coupling strength.

## Discussion

The study revealed that sleep restriction disturbs the encoding of new information without impairing reinstatement of encoding-related activity patterns or recognition memory evaluated after a full night's sleep. This paradox might be accounted for by the activation of specific neural mechanisms of memory consolidation during sleep. Our findings showed that sleep restriction decreased the stability of neural patterns throughout the repeated encoding of stimuli during the subsequent awake period. The decrease of encoding strength was associated with enhanced temporal grouping of fast SPs by the SO during the following night of recovery sleep; and the increased SO-SP coupling was, in turn, associated with the reinstatement of encoding processes during retrieval the next morning. Importantly, the degree of SO-SP coupling emerged as an important determinant of successful recognition only for memories that were weakly encoded during the previous awake time. The current study provides novel insights into the dynamic interplay between awake and sleep memory processes.

**Sleep restriction reduces encoding strength.** Here, we provide novel evidence that restriction of sleep time to 4 h the night before training by applying a bedtime delay is sufficient to disrupt the process of memory stabilization underlying a repeated exposure to the same event<sup>16</sup>. Using pattern similarity analysis, we found that multiple encodings of the same event elicited less stable EEG patterns in sleep-restricted participants relative to participants who obtained a full night of sleep before training.

It is unlikely that the negative impact of sleep restriction on encoding strength was caused by a decrease in the level of alertness or sustained attention. Indeed, the two groups of participants showed similar levels of sleepiness, comparable performance in the training task, and a similar degree of variability in RT across trials, confirming results from previous studies<sup>1,54</sup>. However, the influence of top-down control of sensory processing, as suggested by previous results<sup>18,19,55</sup>, cannot be discarded, because the stability of EEG patterns was also reduced during early encoding over frontoparietal regions after a shortened night of sleep.

Additionally, the adverse effects of sleep restriction on the stability of neural representations could have been mediated by changes in the activation level of the hippocampus during encoding, which is required to build distinct, pattern-separated representations<sup>56,57</sup>. In support of this idea, encoding hippocampal activity has been found to be significantly reduced following a night of sleep disruption<sup>1</sup> or total sleep deprivation<sup>2</sup>, and to be predictive of the amount of recovered information<sup>58</sup> and of the magnitude of cortical reinstatement during retrieval<sup>42,59</sup>. These results are consistent with the fact that both encoding strength and reinstatement of previous encoded-related neural patterns emerged in the present study as key determining factors of successful recognition.

**Sleep promotes strengthening of weakly encoded memories.** Sleep restriction, like total sleep deprivation<sup>1,18,19</sup> or SWS disruption<sup>2</sup>, disturbed encoding of new information, but without impairing memory retrieval following one night of recovery sleep. Taken together, these results suggest that our sleep manipulation likely produced less severe effects on encoding processes, thereby allowing the brain to restore weak memories during subsequent sleep. Studies applying targeted memory reactivation, a method for cueing the reactivation of specific memories in SWS, suggest that this procedure mainly facilitates consolidation of those memories that were recalled with a low degree of accuracy prior to sleep<sup>3,4</sup>. Supporting these results, the strength of encoded memories in the present study was negatively related to the temporal grouping of fast SPs by the SO up-state during the subsequent night's sleep, so that the weaker the encoding, the higher the coupling strength between SPs and SOs. But the most striking result was that the interplay between brain oscillations during SWS only contributed to predict correct recognition for memories that were poorly encoded during the day before. These findings strongly suggest that the temporal dynamics between SPs and SOs in consolidating hippocampus-dependent memory<sup>48,60–66</sup> is modulated by the strength of prior encoding.

According to the model of active system consolidation during sleep, recently encoded memories that are reactivated during subsequent sleep have a greater likelihood to undergo qualitative changes, making them stronger to interference and more resistant to forgetting<sup>25,27,28,67</sup>. If the reactivation of prior memories during SWS, indexed here by the degree of SO-SP coupling, leads to a transformation or elaboration of the memory representations, retrieval should be less dependent on the reinstatement of certain encoding processes<sup>68</sup>, especially those referred to reactivation of nonessential information. In line with this prediction, SO-SP coupling correlated negatively with the reinstatement of frontoparietal neural pattern of activity elicited at early stages of encoding. In contrast, sustained reinstatement of the frontoparietal pattern across time was greater with the increased coupling between SPs and SOs in the previous night. These two apparent paradoxical results could be reconciled if we consider



the possibility that distinct processes are being reactivated during early and late retrieval: one more focused on perceptual or contextual aspects of the event, and the other more related to later stages of memory retrieval involving, for example, semantic reactivation or executive control operations to regulate the attention towards the reactivated memories.

### Conclusions

Late bedtime habits are, unfortunately, a common practice among young adults. The current study shows that insufficient nocturnal sleep has a direct impact on learning mechanisms during the subsequent awake period, leading to weak memory formation for novel events. Weakly formed memories however, have a higher capacity to interact with sleep neural mechanisms underlying memory consolidation during a recovery night sleep, which in turn, helps restore memory representations to be accessible during later awake retrieval. Altogether, these findings support the notion that sleep may promote the strengthening of weakly encoded memories due to reduced sleep time in the night before.

### Data availability

The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Received: 10 July 2019; Accepted: 16 January 2020;

Published online: 29 January 2020

### References

1. Yoo, S. S., Hu, P. T., Gujar, N., Jolesz, F. A. & Walker, M. P. A deficit in the ability to form new human memories without sleep. *Nat. Neurosci.* **10**, 385–392 (2007).
2. Van der Werf, Y. D. *et al.* Sleep benefits subsequent hippocampal functioning. *Nat. Neurosci.* **12**, 122–123 (2009).
3. Cairney, S. A., Lindsay, S., Sobczak, J. M., Paller, K. A. & Gaskell, M. G. The benefits of targeted memory reactivation for consolidation in sleep are contingent on memory accuracy and direct cue-memory associations. *Sleep* **39**, 1139–1150 (2016).
4. Creery, J. D., Oudiette, D., Antony, J. W. & Paller, K. A. Targeted Memory Reactivation during Sleep Depends on Prior Learning. *Sleep* **38**, 755–763 (2015).
5. Diekelmann, S., Born, J. & Wagner, U. Sleep enhances false memories depending on general memory performance. *Behav. Brain Res.* **208**, 425–429 (2010).
6. Djonlagic, I. *et al.* Sleep enhances category learning. *Learn. Mem.* **16**, 751–755 (2009).
7. Drosopoulos, S., Schulze, C., Fischer, S. & Born, J. Sleep's function in the spontaneous recovery and consolidation of memories. *J. Exp. Psychol. Gen.* **136**, 169–183 (2007).
8. Dumay, N. Sleep not just protects memories against forgetting, it also makes them more accessible. *Cortex* **74**, 289–296 (2016).
9. Kuriyama, K., Stickgold, R. & Walker, M. P. Sleep-dependent learning and motor-skill complexity. *Learn. Mem.* **11**, 705–713 (2004).
10. McDevitt, E. A., Duggan, K. A. & Mednick, S. C. REM sleep rescues learning from interference. *Neurobiol. Learn. Mem.* **122**, 51–62 (2015).
11. Peters, K. R., Smith, V. & Smith, C. T. Changes in sleep architecture following motor learning depend on initial skill level. *J. Cogn. Neurosci.* **19**, 817–829 (2007).
12. Sio, U. N., Monaghan, P. & Ormerod, T. Sleep on it, but only if it is difficult: effects of sleep on problem solving. *Mem. Cognit.* **41**, 159–166 (2013).
13. Lu, Y., Wang, C., Chen, C. & Xue, G. Spatiotemporal neural pattern similarity supports episodic memory. *Curr. Biol.* **25**, 780–785 (2015).
14. Sols, I., DuBrow, S., Davachi, L., Fuentetaja, L. Event Boundaries Trigger Rapid Memory Reinstatement of the Prior Events to Promote Their Representation in Long-Term Memory. *Curr Biol.* **27**(22), 3499–3504.e4 Nov 20 (2017).
15. Kuhl, B. A., Rissman, J. & Wagner, A. D. Multi-voxel patterns of visual category representation during episodic encoding are predictive of subsequent memory. *Neuropsychologia* **50**, 458–469 (2012).
16. Xue, G. *et al.* Greater neural pattern similarity across repetitions is associated with better memory. *Science* **330**, 97–101 (2010).
17. Xue, G. *et al.* Complementary role of frontoparietal activity and cortical pattern similarity in successful episodic memory encoding. *Cereb. Cortex* **23**, 1562–1571 (2013).
18. Poh, J. H. & Chee, M. W. Degradation of neural representations in higher visual cortex by sleep deprivation. *Sci. Rep.* **7**, 45532 (2017).
19. Poh, J. H. & Chee, M. W. L. Degradation of cortical representations during encoding following sleep deprivation. *Neuroimage* **153**, 131–138 (2017).
20. Helfrich, R. F., Mander, B. A., Jagust, W. J., Knight, R. T. & Walker, M. P. Old Brains Come Uncoupled in Sleep: Slow Wave-Spindle Synchrony, Brain Atrophy, and Forgetting. *Neuron* **97**, 221–230 (2018).
21. Latchoumane, C. V., Ngo, H. V., Born, J. & Shin, H. S. Thalamic Spindles Promote Memory Formation during Sleep through Triple Phase-Locking of Cortical, Thalamic, and Hippocampal Rhythms. *Neuron* **95**, 424–435 (2017).
22. Maingret, N., Girardeau, G., Todorova, R., Goutier, M. & Zugaro, M. Hippocampo-cortical coupling mediates memory consolidation during sleep. *Nat. Neurosci.* **19**, 959–964 (2016).
23. Staresina, B. P. *et al.* Hierarchical nesting of slow oscillations, spindles and ripples in the human hippocampus during sleep. *Nat. Neurosci.* **18**, 1679–1686 (2015).
24. Zhang, H., Fell, J. & Axmacher, N. Electrophysiological mechanisms of human memory consolidation. *Nat. Commun.* **9**, 4103 (2018).
25. Diekelmann, S. & Born, J. The memory function of sleep. *Nat. Rev. Neurosci.* **11**, 114–126 (2010).
26. Danker, J. F. & Anderson, J. R. The ghosts of brain states past: remembering reactivates the brain regions engaged during encoding. *Psychol. Bull.* **136**, 87–102 (2010).
27. Dudai, Y., Karni, A., Born, J. The Consolidation and Transformation of Memory. *Neuron* **88**(1):20–32 Oct 7 (2015).
28. Klinzing, J. G., Niethard, N., Born, J. Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. *Nat. Neurosci.* **22**(10):1598–1610 Oct (2019).
29. Alberca-Reina, E., Cantero, J. L. & Atienza, M. Semantic congruence reverses effects of sleep restriction on associative encoding. *Neurobiol. Learn. Mem.* **110**, 27–34 (2014).
30. Alberca-Reina, E., Cantero, J. L. & Atienza, M. Impact of sleep loss before learning on cortical dynamics during memory retrieval. *Neuroimage* **123**, 51–62 (2015).
31. Bennion, K. A., Payne, J. D. & Kensinger, E. A. The impact of napping on memory for future-relevant stimuli: Prioritization among multiple salience cues. *Behav. Neurosci.* **130**, 281–289 (2016).

32. Merhav, M., Karni, A. & Gilboa, A. Not all declarative memories are created equal: Fast Mapping as a direct route to cortical declarative representations. *Neuroimage* **117**, 80–92 (2015).
33. Rauchs, G. *et al.* Sleep contributes to the strengthening of some memories over others, depending on hippocampal activity at learning. *J. Neurosci.* **31**, 2563–2568 (2011).
34. Saletin, J. M., Goldstein, A. N. & Walker, M. P. The role of sleep in directed forgetting and remembering of human memories. *Cereb. Cortex* **21**, 2534–2541 (2011).
35. Van Dongen, E. V., Thielen, J. W., Takashima, A., Barth, M. & Fernández, G. Sleep supports selective retention of associative memories based on relevance for future utilization. *PLoS One* **7**, e43426 (2012).
36. Wilhelm, I. *et al.* Sleep selectively enhances memory expected to be of future relevance. *J. Neurosci.* **31**, 1563–1569 (2011).
37. Karpicke, J. D. & Smith, M. A. Separate mnemonic effects of retrieval practice and elaborative encoding. *J. Mem. Lang.* **67**, 17–29 (2012).
38. Antony, J. W. & Paller, K. A. Retrieval and sleep both counteract the forgetting of spatial information. *Learn. Mem.* **25**, 258–263 (2018).
39. Johns, M. W. A new method for measuring daytime sleepiness: The Epworth sleepiness scale. *Sleep* **14**, 540–545 (1991).
40. Snodgrass, J. G. & Corwin, J. Pragmatics of measuring recognition memory: Applications to dementia and amnesia. *J. Exp. Psychol. Gen.* **117**, 34–50 (1988).
41. Schiff, S. J. Dangerous phase. *Neuroinformatics* **3**, 315–318 (2005).
42. Danker, J. F., Tompary, A. & Davachi, L. Trial-by-Trial Hippocampal Encoding Activation Predicts the Fidelity of Cortical Reinstatement During Subsequent Retrieval. *Cereb. Cortex* **27**, 3515–3524 (2017).
43. Iber, C., Ancoli-Israel, S., Chesson, A. L. Jr. & Quan, S. F. 1st ed. Westchester, IL: American Academy of Sleep Medicine. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology, and technical specification (2007).
44. Mölle, M., Marshall, L., Gais, S. & Born, J. Grouping of spindle activity during slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep. *J. Neurosci.* **22**, 10941–10947 (2002).
45. Fogel, S. M. & Smith, C. T. The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **35**, 1154–1165 (2011).
46. Rasch, B. & Born, J. About sleep's role on memory. *Physiol. Rev.* **93**, 681–766 (2013).
47. Coppieters' Wallant, D., Maquet, P. & Phillips, C. Sleep Spindles as an Electrographic Element: Description and Automatic Detection Methods. *Neural Plast.* 6783812 (2016).
48. Mölle, M., Bergmann, T. O., Marshall, L. & Born, J. Fast and slow spindles during the sleep slow oscillation: disparate coalescence and engagement in memory processing. *Sleep* **34**, 1411–1421 (2011).
49. Maris, E. & Oostenveld, R. Nonparametric statistical testing of EEG- and MEG-data. *J. Neurosci. Methods* **164**, 177–190 (2007).
50. Hair, J. F., Black, W. C., Babin, B. J., Anderson, R. E., Tatham, R. L. *Multivariate Data Analysis*. 7th ed. New York: Pearson (2010).
51. Rasbash, J., Steele, F., Browne, W. J. & Goldstein, H. A User's Guide to MLwiN: Version 2.26. Centre for Multilevel Modelling, University of Bristol, Bristol, UK (2012).
52. R Core Team R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2016 (2016).
53. Bates, D., Maechler, M. & Bolker, B. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and R syntax [Computer software]. Retrieved 1 September 2013 from <https://github.com/jcj/lme4/lme4/> (R package version 0.999999-2) (2013).
54. Antonenko, D., Diekelmann, S., Olsen, C., Born, J. & Mölle, M. Napping to renew learning capacity: enhanced encoding after stimulation of sleep slow oscillations. *Eur. J. Neurosci.* **37**, 1142–1152 (2013).
55. Aly, M. & Turk-Browne, N. B. Attention stabilizes representations in the human hippocampus. *Cereb. Cortex* **26**, 783–796 (2016).
56. Eichenbaum, H., Yonelinas, A. P. & Ranganath, C. The medial temporal lobe and recognition memory. *Annu. Rev. Neurosci.* **30**, 123–152 (2007).
57. Yassa, M. A. & Stark, C. E. L. Pattern separation in the hippocampus. *Trend Neurosci.* **34**, 515–525 (2011).
58. Staresina, B. P. & Davachi, L. Selective and shared contributions of the hippocampus and perirhinal cortex to episodic item and associative encoding. *J. Cogn. Neurosci.* **20**, 1478–1489 (2008).
59. Wing, E. A., Ritchey, M. & Cabeza, R. Reinstatement of individual past events revealed by the similarity of distributed activation patterns during encoding and retrieval. *J. Cogn. Neurosci.* **27**, 679–691 (2015).
60. Cox, R., Schapiro, A. C., Manoach, D. S. & Stickgold, R. Individual Differences in Frequency and Topography of Slow and Fast Sleep Spindles. *Front. Hum. Neurosci.* **11**, 433 (2017).
61. Marshall, L., Helgadottir, H., Mölle, M. & Born, J. Boosting slow oscillations during sleep potentiates memory. *Nature* **444**, 610–613 (2006).
62. Muehlroth, B. E. *et al.* Precise Slow Oscillation-Spindle Coupling Promotes Memory Consolidation in Younger and Older Adults. *Sci. Rep.* **9**, 1940 (2019).
63. Ngo, H. V., Martinetz, T., Born, J. & Mölle, M. Auditory closed-loop stimulation of the sleep slow oscillation enhances memory. *Neuron* **78**, 545–553 (2013).
64. Ngo, H. V. *et al.* Driving sleep slow oscillations by auditory closed-loop stimulation—a self-limiting process. *J. Neurosci.* **35**, 6630–6638 (2015).
65. Niknazar, M., Krishnan, G. P., Bazhenov, M. & Mednick, S. C. Coupling of Thalamocortical Sleep Oscillations Are Important for Memory Consolidation in Humans. *PLoS One* **10**, e0144720 (2015).
66. Weigenand, A., Mölle, M., Werner, F., Martinetz, T. & Marshall, L. Timing matters: open-loop stimulation does not improve overnight consolidation of word pairs in humans. *Eur. J. Neurosci.* **44**, 2357–2368 (2016).
67. Born, J. & Wilhelm, I. System consolidation of memory during sleep. *Psychol. Res.* **76**, 192–203 (2012).
68. Karlsson Wirebring, L. *et al.* Lesser Neural Pattern Similarity across Repeated Tests Is Associated with Better Long-Term Memory Retention. *J. Neurosci.* **35**, 9595–602 (2015).

### Acknowledgements

This research was supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (PSI2011-24922, PSI2016-80489-P, PSI2017-85311-P, SAF2017-85310-R); the Regional Ministry of Innovation, Science and Enterprise, Junta de Andalucía (P12-CTS-2327); CIBERNED (CB06/05/1111), the International Center on Aging CENIE-POCTEP (0348\_CIE\_6\_E), and the Spanish Sleep Society.

### Author contributions

M.A., J.L.C., L.F., and D.B. designed the study. D.B. and M.A. performed analyses, wrote the main manuscript text, and prepared Figures. All authors greatly contributed to following versions of the reviewed manuscript.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.



www.nature.com/scientificreports/

#### Additional information

**Supplementary information** is available for this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58496-4>.

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to M.A.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020

## SUPPLEMENTARY MATERIAL

### **Weakly encoded memories due to acute sleep restriction can be rescued after one night of recovery sleep**

Daniel Baena, Jose L. Cantero, Lluís Fuentemilla, Mercedes Atienza

#### **Supplementary Methods**

##### **Methods S1. Identification of SOs and SPs**

###### **Identification of slow oscillations**

First, the EEG data was band-pass filtered between 0.5 and 3.5 Hz using a finite impulse response (FIR) filter. Next, time points of positive to negative zero crossings were computed, and the lowest and highest values between every 2 of these time points were detected. SOs were defined as intervals between consecutive positive-to-negative zero crossings with a length of 0.9 to 2 s if the corresponding negative peak amplitude was lower than  $-80 \mu\text{V}$  and the corresponding amplitude difference (positive peak minus negative peak) was  $\geq 140 \mu\text{V}$ . Averages of original EEG data in a 3 s window  $\pm 1.5$  s around the peak of the negative half-wave of all detected SOs were computed. We calculated SO number, density (number per minute), mean duration, and mean peak-to-peak amplitude, as well as the duration of the down-states and up-states at each EEG electrode. These indices were finally averaged across EEG electrodes for each participant.

###### **Identification of sleep spindles**

We first performed a manual identification of sleep SPs in EEG electrodes selected for visual inspection (F3, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1, O2). Although recent research has focused on providing a standard to define sleep SPs (Mei et al., 2017; O'Reilly et al., 2017; Purcell et al., 2017; Ray et al., 2015), the definition of these events varies across studies, which likely contributes to the difficulty of their automatic classification. Based on previous data comparing automated SP detection with expert manual SP scoring (Ray et al., 2015), start and end markers were placed in the EEG derivation that showed maximum amplitude if the SP fulfilled the following criteria: (i) duration varying between 0.5 and 3 s; (ii) minimum amplitude of  $15 \mu\text{V}$ ; (iii) fusiform morphology; and (iv) minimum inter-spindle interval of 1 s (Urakami et al., 2012).

Next, we applied an automatic sleep SP analysis based on an established algorithm previously described (Mölle et al., 2011). To reduce the number of false positives, the automatic identification was restricted to the time window established by manual markers. Although fast SPs are more evident in centroparietal electrodes as opposed to the more frontocentral expression of slow SPs (Andrillon et al., 2011; Cox et al., 2017; Werth et al., 1997; Zeitlhofer et al., 1997), recent evidence has shown that fast SPs are modulated by the SOs even at sites where they are less

prominent (Cox et al., 2018), and that not only centroparietal but also frontocentral fast SPs can be a key determinant of offline memory consolidation for both motor learning (Mander et al., 2017) and episodic memory (Cairney et al., 2018). Building on this evidence, the automatic identification was then run at anterior and posterior electrodes separately. The former included frontal, frontocentral and frontotemporal EEG locations (F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8), while the latter included centroparietal, parietal and parietotemporal EEG locations (TP7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz, P2, P4, P6, P8).

Before applying the automatic algorithm, the EEG signal was band-pass filtered with a FIR between 13 and 16 Hz. Then, the root mean square (RMS) of the filtered signal was calculated at each sample point using a moving window of 0.2 s. The resulting RMS signal was smoothed with a moving average of 0.2 s. The threshold for SP detection in the RMS signal was set to 1.5 standard deviations of the filtered signal within the time interval established by the manual markers, as defined by the mean across EEG electrodes. A SP was detected when the RMS signal remained above the threshold for 0.5-3 s, and the beginning and end of the SP were marked at the threshold crossing points. For every detected SP, the peak and trough were defined as the maximum and minimum of the filtered signal (between the beginning and end of the SP) and the deepest trough was designated as the “SP peak” that represented the respective SP in time, i.e., the time point taken for referencing event correlation histograms. SP density, amplitude, duration, intensity (duration/amplitude) and dominant frequency was calculated for each EEG derivation.

### Methods S2. Statistical analysis of STPS

For the STPS analysis, statistics were computed for every time point, and the time points whose statistical values were above a threshold ( $p = 0.05$ ) were selected and clustered into connected sets on the basis of temporal and spatial adjacency. The cluster-level statistics were calculated by taking the sum of the statistical values within a cluster (e.g.,  $t$ - or  $z$ -statistic). After applying a primary threshold to voxels,  $p$ -values ( $\alpha = 0.05$ ) were assessed by means of 10,000 permutations using the Monte Carlo method implemented in the Fieldtrip toolbox. Next, the maximum cluster statistics over all six regions were chosen to construct a distribution of the cluster-level statistics under the null hypothesis. The nonparametric statistical test was obtained by calculating the proportion of randomized test statistics that exceeded the observed cluster-level statistics.

### Methods S3. Estimation of effect size and confidence intervals

To estimate the standardized effect size for the mean difference between groups, we first computed Cohen's  $d$  (Cohen, 1992) by dividing the mean difference by the pooled standard deviation and next applied the Hedges correction (Hedges'  $d$ ) (Cumming, 2012) for small samples. Although Cohen classified standardized effect sizes as small ( $d = 0.2$ ), medium ( $d = 0.5$ ), and large ( $d \geq 0.8$ ), these values are arbitrary. In order to facilitate their interpretation, we converted these standardized effect sizes into a percentage by calculating the common language (CL) (McGraw & Wong, 1992). It expresses the probability that an individual from one

group (or treatment) has a higher value on one measurement than a person from the other group (or as compared to another condition). To estimate the standardized effect size between two mean dependent samples, we first computed Cohen's  $d_{rm}$ , and next applied the Hedges correction (Hedges'  $g_m$ ) (Lakens, 2013). For correlation analyses, we report the correlation coefficient  $r$  as a standardized measure of effect size. In those cases in which a mixed ANOVA was applied, the partial eta squared ( $\eta^2_p$ ) was computed as a measure of the effect size for the within-subjects factor. This index expresses the sum of squares of the effect in relation to the sum of squares of the effect plus the sum of squares of the error associated with the effect (Keppel, 1991).

## Supplementary Results

### Results S1. Effects of sleep restriction on behavioral performance during training

The NSD group ( $1.85 \pm 0.55$ ) and ASR group ( $1.57 \pm 0.51$ ) showed similar scores on the Epworth Sleepiness Scale during the training session ( $t_{(25)} = 1.34$ ,  $p = 0.19$ ,  $d [CI_{0.95}] = 0.51 [-0.09 \ 0.66]$ ,  $CL = 0.37$ ). Although this result was unexpected, the arousal level associated with the task instructions and the subjective nature of the sleepiness measure may partially account for the lack of group differences (Belenky et al., 2003; Leproult et al., 2003).

During the training phase, there were no statistically significant differences between groups in false alarms, anticipated responses (i.e., RT shorter than 300ms), long delays (i.e., RT longer than 2500ms), or intra-subject variability of RT (see supplementary Table S2). The mixed ANOVA only revealed an improvement of the hit rate ( $F_{3,75} = 8.68$ ,  $p = 0.0001$ ,  $\eta^2_p = 0.26$ ) and decreases of RT across repetitions ( $F_{3,75} = 31.47$ ,  $p < 10^{-12}$ ,  $\eta^2_p = 0.56$ ) that were independent of whether participants slept 4 or 8 h the night before (hit rate:  $F_{3,75} = 1.28$ ,  $p < 0.29$ ,  $\eta^2_p = 0.049$ ; RT:  $F_{3,75} = 0.23$ ,  $p < 0.87$ ,  $\eta^2_p = 0.009$ ).

### Results S2. Contribution of encoding STPS to recognition memory

We evaluated whether the stability of EEG activity patterns during training, revealed by the strength of content-specific STPS across repetitions of face-face pairs, contributed to recognition memory. In particular, we compared the encoding STPS for subsequently remembered and forgotten events associated with the 1<sup>st</sup> vs. 2<sup>nd</sup>, 2<sup>nd</sup> vs. 3<sup>rd</sup>, and 3<sup>rd</sup> vs. 4<sup>th</sup> repetition.

The first contrast yielded greater STPS between the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> repetition of subsequently remembered paired-associates compared to subsequently forgotten paired-associates over central areas between 340 and 460 ms ( $t_{(25)} = 5.79$ ,  $p_{cluster-corrected} = 0.038$ ,  $d [CI_{0.95}] = 1.25 [0.70 \ 1.79]$ ,  $CL = 0.91$ ). Participants also showed greater STPS for subsequently forgotten than remembered associations in two temporal clusters. The former extended over the central areas from approximately 60 to 200 ms ( $t_{(25)} = -6.12$ ,  $p_{cluster-corrected} = 0.001$ ,  $d [CI_{0.95}] = -1.71 [-2.38 \ -1.15]$ ,  $CL =$

1.22) while the later was evident over frontoparietal areas from 320 to 760 ms ( $t_{(25)} = -5.84$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.027$ ,  $d [CI_{0.95}] = -1.46 [-2.07 -0.78]$ ,  $CL = 1.03$ ).

The second contrast (i.e., STPS between the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> repetition) also revealed one early cluster associated with successful recognition over frontocentral areas between 220 and 440 ms ( $t_{(25)} = 3.58$ ,  $p_{\text{uncorrected}} = 0.001$ ,  $d [CI_{0.95}] = 0.95 [0.43 1.51]$ ,  $CL = 0.68$ ), and another cluster associated with forgetfulness that extended over the entire scalp between 300 and 800 ms ( $t_{(25)} = -6.83$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 2 \times 10^{-4}$ ,  $d [CI_{0.95}] = -2.10 [-3.03 -1.02]$ ,  $CL = 1.51$ ). Interestingly, after the 4<sup>th</sup> repetition of the event (Supplementary Fig. S2), the stability of the EEG activity patterns that contributed to successful recognition memory emerged at the end of the interval, between 500 and 800 ms ( $t_{(25)} = 5.83$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.002$ ,  $d [CI_{0.95}] = 1.07 [0.63 1.50]$ ,  $CL = 0.77$ ), while the one contributing to forgetting was evident in an earlier time interval ranging from approximately 200 to 600 ms ( $t_{(25)} = -6.51$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 8 \times 10^{-5}$ ,  $d [CI_{0.95}] = -1.52 [-2.36 -0.75]$ ,  $CL = 1.07$ ). Both clusters extended practically over the entire scalp. As illustrated in Fig. S2, the NSD and ASR groups showed similar patterns of EEG reactivation associated with memory recognition.

The stability of EEG activity patterns in response to the 4<sup>th</sup> repetition with respect to the previous presentation indicates that too much early reactivation of neural activity associated with previously encoded stimuli might be detrimental to long-term memory while the later-in-time reactivation might be beneficial; likely because a different kind of information is being reactivated at each moment. Consistent with this interpretation, Zhang et al. (2018) found that subsequent memory was only accounted for by stimulus-specific activity occurring between 500 and 1200 ms, but not by the neural activity occurring earlier in time. As predicted by the levels of processing framework (Craik & Lockhart, 1972), it is likely that differences observed in the late time interval reflect the contribution of deep semantic processing to more elaborate, longer-lasting, and stronger memory traces than the ones that would be produced by shallow levels of processing in earlier time intervals.

Additionally, we found that although the encoding STPS associated with the difference due to memory in the early and late time intervals were tightly related to each other across all participants ( $F_{1,31} = 30.2$ ,  $p = 0.000005$ ; for more details see Results S2 in supplementary material), only the STPS associated with remembered events in the late time window (Fig. S2D) was positively correlated across all participants with the index of recognition accuracy  $d'$  over frontal and right parietooccipital areas ( $r_{(25)} [CI_{0.95}] = 0.61 [0.27 0.81]$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.02$ ,  $CL = 1.13$ ). This relationship was mainly evident in the NSD group ( $r_{(11)} [CI_{0.95}] = 0.74 [0.34 1.18]$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.037$ ,  $CL = 0.96$ ; Fig. S2E-F), but the comparison of regression coefficients and slopes did not reveal between group differences (Fig. S3A). The false alarm rate was the main determining factor of this association (Fig. S3B). Accordingly, the STPS associated with the difference due to memory was positively correlated with the false alarm rate (but not with the hit rate) within the same spatiotemporal window. The cluster did not survive FWE correction but the size effect was significant ( $r_{(25)} [CI_{0.95}] = -0.43 [-0.92 -0.12]$ ,  $p_{\text{uncorrected}} = 0.14$ ,  $CL = 1.67$ ). The same analyses were performed for the 1<sup>st</sup> vs. 2<sup>nd</sup> and for the 2<sup>nd</sup> vs. 3<sup>rd</sup> repetition,

but the stability of EEG activity patterns across repeated study only contributed to improve recognition accuracy after the 4<sup>th</sup> presentation of face-face pairs.

### Results S3. Effects of ASR on macrostructure and microstructure of sleep

Table S4 shows the polysomnography-derived sleep parameters in the two groups, and Table S5 the parameters defining SOs and fast SPs. No group differences were found for any parameter related to macrostructure of sleep after applying Bonferroni correction. The lack of group differences in N3% is consistent with results of a previous study in which the percentage of SWS recovered to baseline levels after four consecutive nights of 3 h of sleep restriction (Wu et al., 2010). The parameters defining SOs and fast SPs neither survived Bonferroni correction, with the exception of the duration of the depolarizing SO up-state. Differences in the up-state duration are particularly interesting because previous studies have related the length of the up-state with memory improvement (Heib et al., 2013). The authors of this study concluded that the longer duration of the depolarizing component of SOs might provide a longer time window for replaying and transferring the recently encoded memories to longer-lasting storage. On the contrary, recognition accuracy was not related to this parameter in our study; this was the case when all participants were combined ( $r_{(25)} [CI_{0.95}] = 0.37 [-0.13 \ 0.74]$ ,  $CL = 0.62$ ), and also when the analysis was performed on each group separately (NSD:  $r_{(11)} [CI_{0.95}] = 0.54 [-0.34 \ 0.89]$ ,  $CL = 0.68$ ; ASR:  $r_{(12)} [CI_{0.95}] = 0.09 [-0.42$

0.60],  $CL = 0.52$ ). The fact that we could not compute changes in memory performance from pre to post sleep may account for this discrepancy.

Next, we tested group differences in the SO-SP coupling. As previously reported (Mölle et al., 2002, 2011; Fogel & Smith, 2011; Staresina et al., 2015), event correlation histograms revealed a well-defined temporal relationship between fast SPs and SOs in both groups. Fig. S4A shows the temporal grouping of both frontocentral and centroparietal fast SPs by SOs in each group. With reference to the negative half-wave peak of the SOs, fast SP counts were suppressed around the down-state and increased during the up-state in the two groups. Although the ASR group showed a higher temporal coordination of fast SPs by SO up-states as compared to the NSD group (Fig. S4A), permutation testing did not reveal significant differences between groups, likely motivated by the small sample size. Accordingly, the effect sizes reached statistical significance for most time points in the SO up-state interval but not in the down-state period (Fig. S4B-C), regardless of whether SPs were detected over frontocentral (effect sizes ranged from 0.35 to 0.65) or centroparietal electrodes (effect sizes ranged from 0.38 to 0.88).

### Results S4. Contribution of STPS<sub>E-R</sub> to memory performance

As illustrated in Fig. S5A, the STPS<sub>E-R</sub> over the first 150 ms over right frontal and bilateral parietooccipital areas was mainly associated with forgotten events ( $t_{(25)} = -4.86$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.02$ ,  $d_{rm} [CI_{0.95}] = -0.86 [-1.19 -0.54]$ ,  $CL = 0.63$ ), while reinstatement of both frontoparietal EEG-activity patterns from 200 to 450 ms ( $t_{(25)} = 7.62$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.004$ ,  $d_{rm} [CI_{0.95}] = 1.15 [0.74 1.54]$ ,  $CL = 0.82$ ) and frontocentral patterns between 520-800 ms ( $t_{(25)} = 11.04$ ,  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.01$ ,  $d_{rm} [CI_{0.95}] = 0.93 [0.26 1.50]$ ,  $CL = 0.66$ ) mainly contributed to successful recognition memory. While early reinstatement (i.e., 200-400 ms) associated with successful recognition was quite similar in the two groups, early reinstatement (i.e., first 500 ms) associated with recognition failure and late reinstatement (i.e., 400-600 ms) associated with successful recognition was mainly evident in the ASR group (Fig. S5B-C).

### Supplementary Tables

**Table S1.** Artifact-free trials included in the analyses.

Contrast	NSD	ASR
<b>NSD vs. ASR</b> (remembered paired-associates)		
STPS 1 <sup>st</sup> vs. 2 <sup>nd</sup> (training)	17.7 ± 6.5	20.1 ± 6.2
STPS 2 <sup>nd</sup> vs. 3 <sup>rd</sup> (training)	17.1 ± 6.2	19.0 ± 6.6
STPS 3 <sup>rd</sup> vs. 4 <sup>th</sup> (training)	22.6 ± 6.1	21.9 ± 5.1
STPS <sub>E-R</sub>	23.9 ± 7.1	24.8 ± 5.6
<b>Remembered vs. forgotten</b> (equal number of trials for both conditions)		
STPS 1 <sup>st</sup> vs. 2 <sup>nd</sup> (training)	12.6 ± 3.6	11.1 ± 4.0
STPS 2 <sup>nd</sup> vs. 3 <sup>rd</sup> (training)	12.4 ± 3.7	10.5 ± 3.4
STPS 3 <sup>rd</sup> vs. 4 <sup>th</sup> (training)	11.5 ± 4.1	11.9 ± 3.9
STPS <sub>E-R</sub>	11.8 ± 4.6	11.6 ± 3.9

Results are expressed as mean ± SD (standard deviation).

**Table S2.** Behavioral indices of sustained attention per group in the training phase.

Indices	NSD	ASR	<i>p</i>	Hedges' <i>d</i> ( <i>CI</i> <sub>0.95</sub> )	<i>CL</i>
FA	5.92 ± 5.07	4.36 ± 3.65	.36	0.34 (-0.09 1.77)	0.25
Anticipations	0.23 ± 0.44	1.07 ± 1.73	.10	-0.63 (-1.25 -0.58)	0.47
Long delays	3.54 ± 4.56	3.43 ± 3.86	.95	0.02 (-0.70 0.90)	0.01
iCV	0.24 ± 0.03	0.23 ± 0.04	.39	0.32 (-0.10 1.75)	0.24

Results are expressed as mean ± SD (standard deviation). FA = False alarms in two or more consecutive trials; iCV = intra-individual coefficient of variation; CL = common language

**Table S3.** Post-training sleep parameters in the NSD and ASR group.

Sleep parameters	NSD (N013)	ASR (N = 14)	<i>t</i> <sub>(25)</sub>	<i>p</i>	Hedges' <i>d</i> ( <i>CI</i> <sub>0.95</sub> )	<i>CL</i>
TST (min)	478.81 ± 19.05	478.51 ± 10.26	0.50	.960	0.02 (-0.84 0.71)	0.01
SOL (min)	8.90 ± 6.41	5.22 ± 4.54	1.73	.095	0.65 (0.52 2.03)	0.47
N3 latency (min)	25.67 ± 11.79	16.89 ± 6.86	2.39	.025	0.89 (-4.70 3.58)	0.64
REM latency (min)	75.70 ± 29.59	81.51 ± 20.93	-0.59	.559	-0.22 (-1.02 0.39)	0.16
Wake (%)	3.52 ± 2.14	3.01 ± 1.12	0.78	.445	0.29 (-0.16 1.58)	0.21
N1 (%)	5.84 ± 2.54	3.47 ± 1.60	2.93	.007	1.09 (-0.75 2.95)	0.79
N2 (%)	37.53 ± 4.92	37.64 ± 7.43	-0.05	.963	-0.02 (-0.72 0.82)	0.01
N3 (%)*	27.23	29.71	65	.220	-2.23 (-7.33 1.36)	0.36
REM (%)	25.76 ± 4.96	25.50 ± 3.71	0.15	.879	0.06 (-0.64 0.89)	0.04
SE (%)	96.54 ± 2.02	96.97 ± 1.21	-0.61	.545	-0.23 (-1.48 0.27)	0.17

Results are expressed as mean ± SD (standard deviation). TST = total sleep time; SOL = sleep onset latency; SE = sleep efficiency. \*These data show a significant deviation from normality, so the median, the Mann-Whitney U statistic, and the median difference are reported.

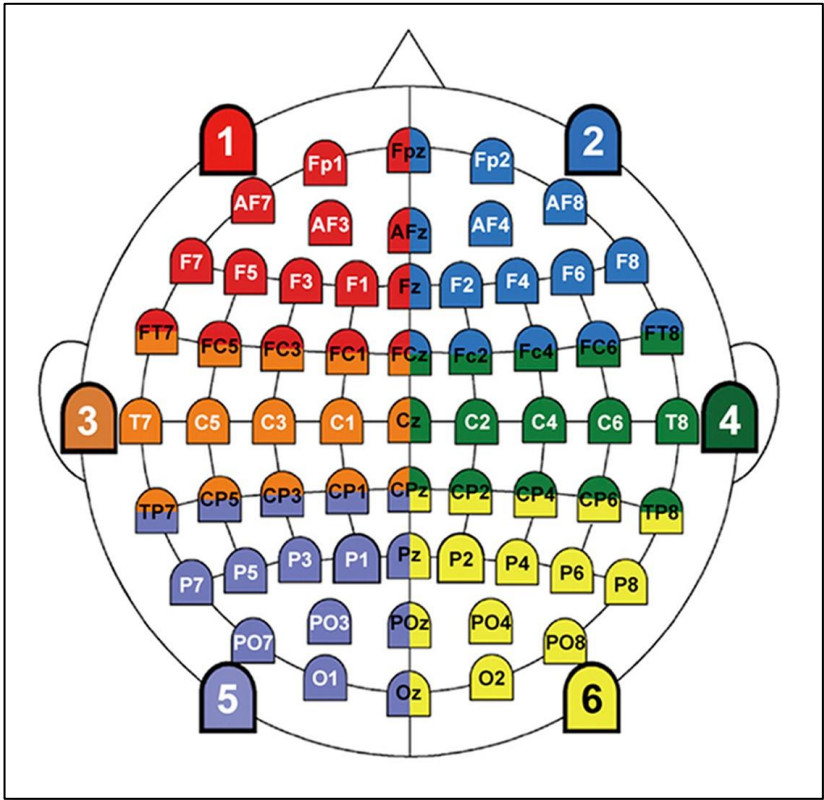


**Table S4.** Parameters defining slow oscillations and fast sleep-spindles in frontocentral and centroparietal locations during post-training sleep in the NSD and ASR group.

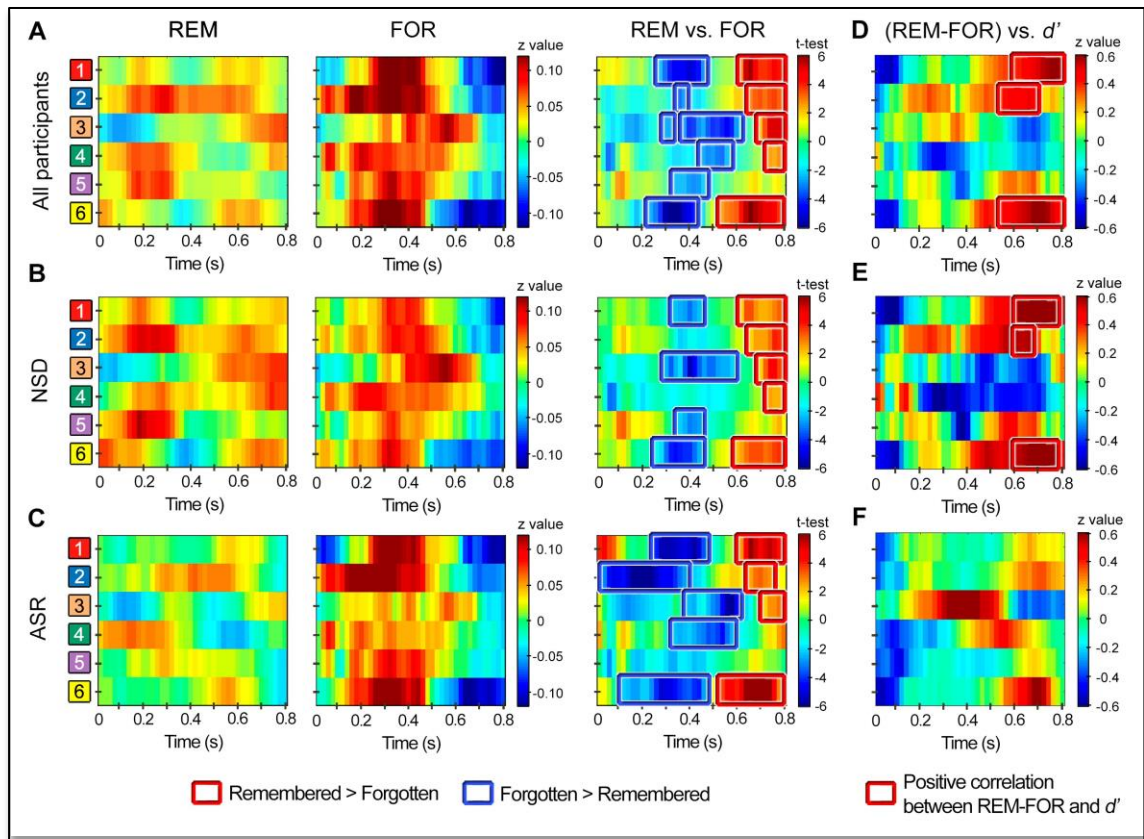
Parameters	NSD	ASR	$t_{(25)}$	$p$	Hedges' $d$ ( $CI_{0.95}$ )	$CL$
<b>Slow oscillations</b>						
Dominant frequency (Hz)	$0.85 \pm 0.03$	$0.88 \pm 0.03$	-1.90	.069	-0.76 (-1.45 -0.74)*	0.55
Density (number/minute)	$4.71 \pm 2.70$	$3.97 \pm 1.79$	0.88	.393	0.32 (-0.07 1.59)	0.23
Amplitude ( $\mu V$ )	$210.9 \pm 36.2$	$204.7 \pm 14.3$	0.59	.558	0.22 (-0.3 1.42)	0.16
Duration (s)	$1.21 \pm 0.05$	$1.18 \pm 0.04$	2.08	.048	0.74 (0.72 1.47)*	0.54
Down state duration (s)	$0.53 \pm 0.04$	$0.52 \pm 0.04$	0.54	.593	0.21 (-0.33 1.29)	0.15
Upstate duration (s)	$0.68 \pm 0.02$	$0.66 \pm 0.02$	3.27	.003*	1.218 (1.217 1.219)*	0.88
<b>Fast frontal spindles</b>						
Dominant frequency (Hz)	$13.70 \pm 0.12$	$13.68 \pm 0.11$	0.45	.652	0.17 (-0.43 1.11)	0.12
Density (number/minute)	$0.57 \pm 0.33$	$0.55 \pm 0.32$	0.22	.828	0.08 (-0.61 0.89)	0.06
Amplitude ( $\mu V$ )	$8.30 \pm 2.45$	$8.29 \pm 2.13$	0.02	.987	0.01 (-0.74 0.78)	0
Duration (s)	$0.82 \pm 0.07$	$0.86 \pm 0.08$	-1.56	.130	-0.59 (-1.42 -0.43)*	0.43
Intensity (duration/amplitude)	$0.11 \pm 0.03$	$0.11 \pm 0.03$	-0.26	.793	-0.1 (-0.97 0.55)	0.07
<b>Fast parietal spindles</b>						
Dominant frequency (Hz)	$13.7 \pm 0.17$	$13.7 \pm 0.14$	0.28	.780	0.01 (-0.56 1.03)	0.07
Density (number/minute)	$0.31 \pm 0.21$	$0.33 \pm 0.20$	-0.16	.872	-0.07 (-0.85 0.67)	0.05
Amplitude ( $\mu V$ )	$10.27 \pm 3.18$	$9.55 \pm 2.00$	0.70	.488	0.26 (-0.20 1.61)	0.19
Duration (s)	$0.82 \pm 0.08$	$0.87 \pm 0.08$	-1.85	.077	-0.68 (-1.61 -0.61)*	0.49

Intensity	0.09 ± 0.03	0.09 ± 0.02	-0.65	.522	-0.23 (-1.17 0.31)	0.17
Results are expressed as mean ± SD (standard deviation). * $p_{\text{Bonferroni-corrected}} < 0.008$						

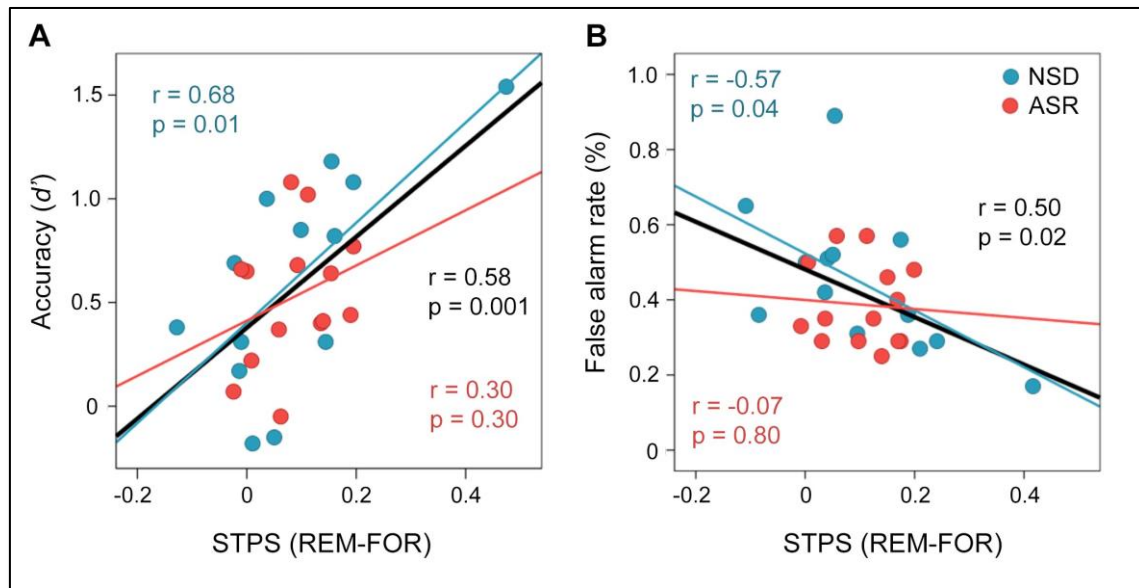
Supplementary Figures



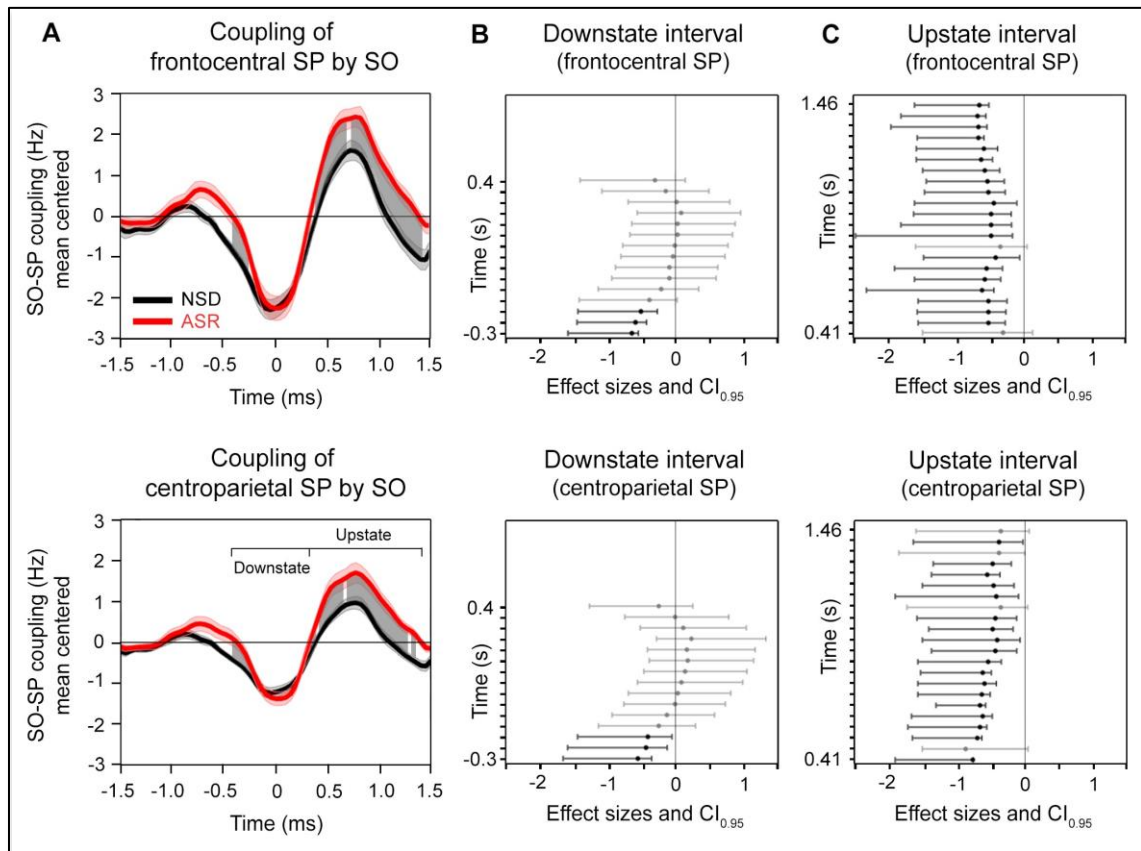
**Figure S1. EEG montage.** Scalp EEG electrodes were grouped into six regions. To obtain more stable spatial patterns, the electrodes in the border of two regions were included in both regions. Reprinted with permission from publication (Lu et al., 2015).



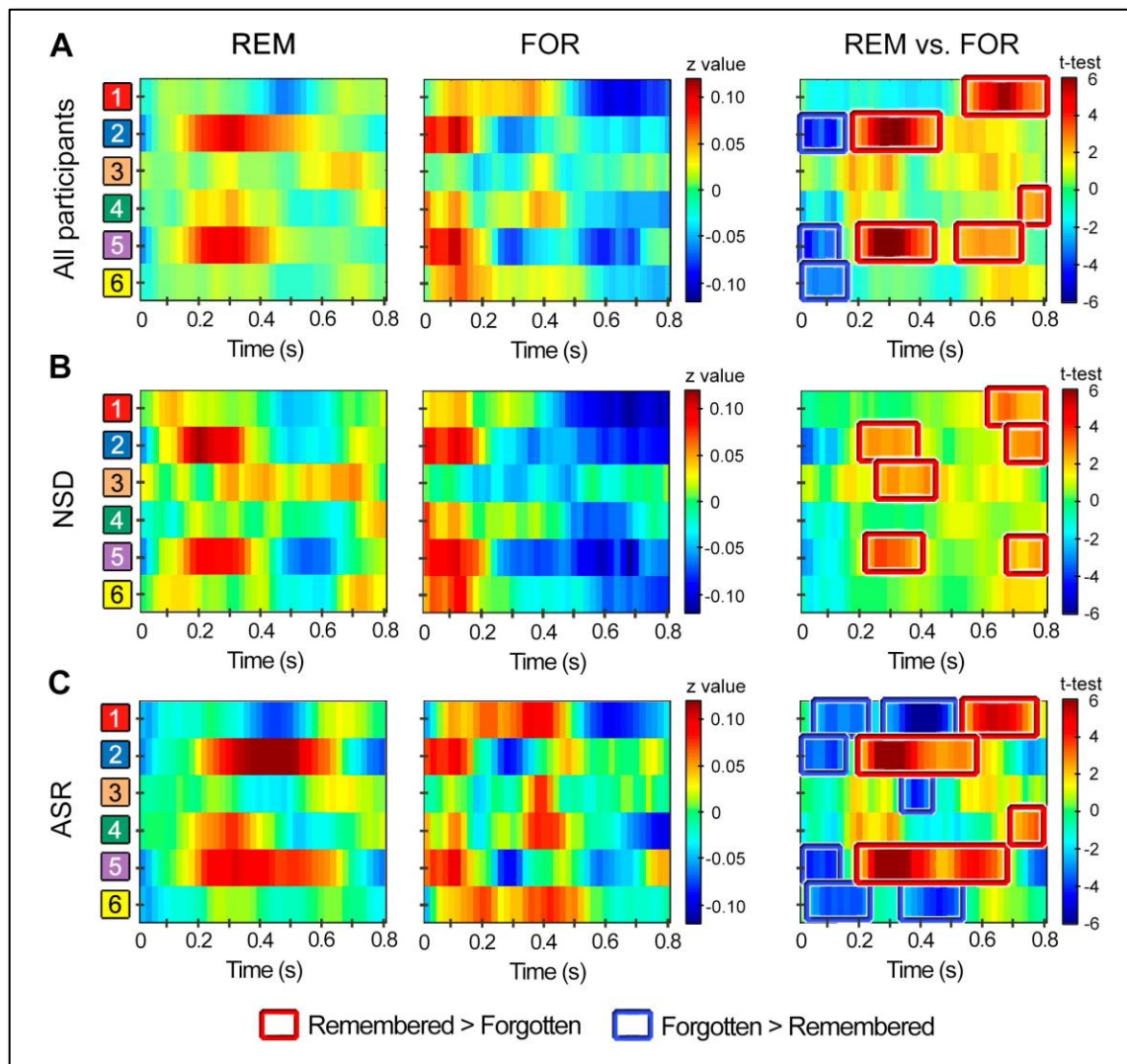
**Figure S2. Contribution of encoding STPS after the 4<sup>th</sup> repetition of the event to memory recognition in the NSD and ASR group.** Within-subjects STPS, expressed as averaged zvalues, between the EEG activity elicited by the 3rd and 4th repetition of paired associates at encoding for subsequently remembered (REM) and forgotten (FOR) paired-associates in the recognition task across all participants (A) for the NSD group (B) and for the ASR group (C). The x-axis represents time, and the y-axis the spatial locations shown in Fig. 2. The statistics of contrasting STPS between remembered and forgotten paired-associates is shown in the third column. The red (REM>FOR) and blue squares (FOR>REM) refer to significant clusters resulting from comparing the two memory conditions. (D-F) The Pearson correlation coefficients converted to z scores between the STPS associated with the difference due to memory (REM-FOR) and the  $d'$  index across all participants (D), and across individuals of the NSD group (E) and ASR group (F). The red squares (positive correlation) refer to significant clusters resulting from such a correlation.



**Figure S3. Relationship between the encoding STPS associated with the difference due to memory and recognition indices.** (A) Scatter plot showing the correlation between the STPS (3<sup>rd</sup> vs. 4<sup>th</sup> repetition) associated with the difference due to memory and accuracy ( $d'$ ) in the recognition task across all participants (black line) and for each group separately. (F) Scatter plot showing the correlation between the STPS (3<sup>rd</sup> vs. 4<sup>th</sup> repetition) associated with the difference due to memory and the false alarm rate in the recognition task across all participants (black line) and for each group separately.



**Figure S4. Effect of ASR on SO-SP coupling during SWS during the recovery sleep night.** (A) Event correlation histogram between frontocentral SOs and fast SPs localized in frontocentral (top) and centroparietal electrodes (bottom) for the NSD group (black line) and ASR group (red line). Decreases in the number of SPs occurred in the SO down-state interval while increases occurred in the up-state interval. The vertical gray bars indicate between-group differences across time based on significant effect sizes. (B) Effect sizes (Hedges's  $d$ ) and  $CI_{0.95}$  during the SO down-state for frontocentral (top) and centroparietal SPs (bottom). (C) The same as in B for the SO up-state. Note that most effect sizes were significant only in the upstate interval.



**Figure S5. Contribution of encoding-retrieval STPS to subsequent memory.** Within-subjects STPS, expressed as averaged z-values, between the EEG activity patterns elicited by the 1<sup>st</sup> and 4<sup>th</sup> repetition of paired associates at encoding and the same pairs presented at retrieval for subsequently remembered (REM) and forgotten (FOR) paired-associates in the recognition task across all participants (A) for the NSD group (B) and for the ASR group (C). The x-axis represents time, and the y-axis the spatial locations shown in Fig. 2A. The statistics of contrasting STPS between remembered and forgotten paired-associates is shown in the right panel. The red and blue squares refer to significant clusters resulting from comparing the two memory conditions. The NSD group showed greater STPS<sub>E-R</sub> for remembered than for forgotten associations in two temporal clusters, one between 200-450 ms and the other between 650-800 ms, but only the former survived FWE correction. The cluster in the early time window was evident over right frontal and left centroparietal regions ( $t_{(25)} = 3.72$ ,  $p_{cluster-corrected} = 0.039$ ,  $d_{rm} [CI_{0.95}] = 1.15 [0.61 \text{ } 1.85]$ ,  $CL = 0.85$ ), and the cluster in the late time window emerged over frontal and left parietal regions ( $t_{(25)} = 3.51$ ,  $p_{uncorrected} = 0.004$ ,  $d_{rm} [CI_{0.95}] = 1.26$ ).



[0.42 1.95],  $CL = 0.92$ ). The ASR group also showed stronger STPS<sub>E-R</sub> for remembered compared with forgotten paired-associates in right frontal and left posterior areas, but for a longer period of time ranging from 200 to 700 ms ( $t_{(25)} = 9.78$ ,  $p_{cluster-corrected} = 0.0002$ ,  $d_{rm} [CI_{0.95}] = 3.40 [2.19 5.04]$ ,  $CL = 2.46$ ). Contrary to the NSD group, reinstatement of frontal and right parietooccipital EEG patterns within the first 500 ms also contributed to recognition failure ( $t_{(12)} = -6.96$ ,  $p_{cluster-corrected} = 0.017$ ,  $d_{rm} [CI_{0.95}] = 1.46 [0.77 2.21]$ ,  $CL = 1.16$ ).

## References

- Andrillon, T. *et al.* Sleep spindles in humans: insights from intracranial EEG and unit recordings. *J. Neurosci.* **31**, 17821-17834 (2011).
- Belenky, G. *et al.* Patterns of performance degradation and restoration during sleep restriction and subsequent recovery: a sleep dose-response study. *J. Sleep Res.* **12**, 1-12 (2003).
- Cairney, S.A., Guttesen, A.Á.V., El Marj, N. & Staresina, B.P. Memory consolidation is linked to spindle-mediated information processing during sleep. *Curr. Biol.* **28**, 948-954 (2018).
- Cohen, J. Statistical Power Analysis. *Curr. Dir. Psychol. Sci.* **1**, 98-101 (1992).
- Cox, R., Gruber, G., Anderer, P., Asenbaum, S., Schimicek, P. & Saletu B. Large-scale structure and individual fingerprints of locally coupled sleep oscillations. *Sleep* **41**, zsy175 (2018).
- Cox, R., Schapiro, A.C., Manoach, D.S. & Stickgold, R. Individual Differences in Frequency and Topography of Slow and Fast Sleep Spindles. *Front. Hum. Neurosci.* **11**, 433 (2017).
- Craik, F.I.M. & Lockhart, R.S. Levels of processing framework for memory research. *J. Verb. Learn Verb. Behav.* **11**, 671-684 (1972).
- Cumming, G. Understanding the New Statistics: Effect sizes, Confidence Intervals, and Meta-Analysis. New York, NY. Routledge (2012).
- Fogel, S.M. & Smith, C.T. The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **35**, 1154-1165 (2011).
- Heib, D.P. *et al.* Slow oscillation amplitudes and up-state lengths relate to memory improvement. *PLoS One.* **8**, e82049 (2013).
- Keppel, G. Design and Analysis: A researcher's handbook. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall (1991).
- Lakens, D. Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Front. Psychol.* **4**, 863 (2013).
- Leproult, R., Colecchia, E.F., Berardi, A.M., Stickgold, R., Kosslyn, S.M. & Van Cauter, E. Individual differences in subjective and objective alertness during sleep deprivation are stable and unrelated. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **284**, R280-R290 (2003).

- Lu, Y., Wang, C., Chen, C. & Xue, G. Spatiotemporal neural pattern similarity supports episodic memory. *Curr. Biol.* **25**, 780-785 (2015).
- Mander, B.A. *et al.* White Matter Structure in Older Adults Moderates the Benefit of Sleep Spindles on Motor Memory Consolidation. *J. Neurosci.* **37**, 11675-11687 (2017).
- McGraw, K O. & Wong, SP. A common language effect size statistic. *Psychol. Bull.* **111**, 361-365 (1992).
- Mei, N., Grossberg, M.D., Ng, K., Navarro, K.T. & Ellmore, T.M. Identifying sleep spindles with multichannel EEG and classification optimization. *Comput. Biol. Med.* **89**, 441-453 (2017).
- Mölle, M., Marshall, L., Gais, S. & Born, J. Grouping of spindle activity during slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep. *J. Neurosci.* **22**, 10941-10947 (2002).
- Mölle, M., Bergmann, T.O., Marshall, L. & Born, J. Fast and slow spindles during the sleep slow oscillation: disparate coalescence and engagement in memory processing. *Sleep* **34**, 1411-1421 (2011).
- O'Reilly, C., Warby, S.C. & Nielsen, T. Sleep Spindles: Breaking the Methodological Wall. Lausanne: Frontiers Media (2017).
- Purcell, S.M. *et al.* Characterizing sleep spindles in 11,630 individuals from the National Sleep Research Resource. *Nat. Commun.* **8**, 15930 (2017).
- Ray, L.B. *et al.* Expert and crowd-sourced validation of an individualized sleep spindle detection method employing complex demodulation an individualized normalization. *Front. Hum. Neurosci.* **9**, 507 (2015).
- Staresina, B.P. *et al.* Hierarchical nesting of slow oscillations, spindles and ripples in the human hippocampus during sleep. *Nat. Neurosci.* **18**, 1679-1686 (2015).
- Urakami, Y., Ioannides, A.A. & Kostopoulos, G.K. Sleep spindles – as a biomarker of brain function and plasticity. In I. H. Ajeena (Ed.) *Advances in clinical neurophysiology* (chapter 4). (2012).
- Werth, E., Achermann, P., Dijk, D.J. & Borbély, A.A. Spindle frequency activity in the sleep EEG: individual differences and topographic distribution. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **103**, 535-542 (1997).
- Wu, H. *et al.* Effects of different sleep restriction protocols on sleep architecture and daytime vigilance in healthy men. *Physiol. Res.* **59**, 821-829 (2010).
- Zeitlhofer, J., Gruber, G., Anderer, P., Asenbaum, S., Schimicek, P., Saletu, B. Topographic distribution of sleep spindles in young healthy subjects. *J. Sleep Res.* **6**, 149-155 (1997).
- Zhang, H., Fell, J. & Axmacher, N. Electrophysiological mechanisms of human memory consolidation. *Nat. Commun.* **9**, 4103 (2018).



***ANEXO II. Artículo en proceso de revisión***

---



## **Stability of neural encoding moderates the joint contribution of sleep and repeated testing to memory consolidation**

Daniel Baena<sup>1</sup>, Jose L. Cantero<sup>1,2</sup>, Mercedes Atienza<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Functional Neuroscience, Pablo de Olavide University, Seville 41013, Spain;

<sup>2</sup>CIBERNED, Network Center for Biomedical Research in Neurodegenerative Diseases, Spain

**\*Corresponding author: Mercedes Atienza, PhD**

Laboratory of Functional Neuroscience

Pablo de Olavide University

Ctra. de Utrera, Km 1

41013 - Seville (SPAIN)

Tel: +34 954 348366

E-mail: [matirui@upo.es](mailto:matirui@upo.es)

### **Highlights**

- Sleep and repeated testing cooperate in promoting memory transformation.
- This relationship is moderated by the quality of encoding.
- Poor encoding favors generalization.
- Strong encoding enhances specificity.

## Abstract

Sleep and retrieval processes favor the efficacy of encoding in long-term memory and the succeeding reorganization of neural representations within hippocampal-cortical networks. Here we investigate whether sleep-dependent consolidation processes cooperate with subsequent repeated testing in the restructuring of memory traces and whether such a relationship is moderated by sleep-induced changes in the quality of encoding. The quality of encoding was determined by computing the degree of similarity between EEG-activity patterns across repetitions of face-face associative pairs in two groups of young participants, one who slept the last 4 h of the pre-training night, and another who slept 8 h. The coordination of slow oscillations (SOs) and spindles (SPs) during post-training sleep was used as an index of sleep-dependent memory consolidation. Finally, encoding-retrieval similarity between repeated face pairs (content-specific) and between face pairs of the same category (face pairs sharing sex and profession) across multiple tests was computed to measure reinstatement at the time of retrieval. Mixed-effects models revealed that the degree of encoding similarity (neural stability) over left frontal regions moderated the relationship between SO-SP coupling and reinstatement across repeated testing. For memories showing lower neural stability at encoding, the SO-SP coupling was associated with increasing reinstatement of encoding activity that was category-specific at the expense of content-specific activity, whilst the opposite occurred for memories showing greater encoding stability. In line with the idea that sleep-dependent consolidation favors weak memories, the interaction became more evident in participants submitted to sleep restriction the night before memory acquisition, who were the ones who showed the smallest similarity at encoding. These results suggest that sleep and repeated testing cooperate in promoting reorganization of memory contents, by increasing specificity of stronger memories and generalization of the weaker ones.

**Keywords:** EEG pattern similarity; restructuring of memory traces; memory specificity; generalization; slow oscillation-spindle coupling.

## Abbreviations

**ASR:** Acute Sleep Restriction; **NSD:** Normal Sleep Duration; **ROI:** region of interest; **SOs:** Slow Oscillations; **SPs:** Spindles; **STPS<sub>E3-E4</sub>** = Spatio-Temporal Pattern Similarity between 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> repetition at encoding; **STPS<sub>E-R</sub>** = Spatio-Temporal Pattern Similarity between Encoding and Retrieval.

## 1. Introduction

Systems consolidation is a complex process whereby repeated reactivation of recently acquired memories becomes integrated into general knowledge structures, often at the expense of specificity loss. These transformations, which improve long-term retention, are thought to occur during active retrieval (Roediger & Karpicke, 2006; Karpicke et al., 2017; Rickard & Pan, 2018), resting awake periods (Oudiette et al., 2013; Tambini et al., 2017; Wamsley, 2019) and sleep (Gais et al., 2007; Takashima et al., 2009; Born & Wilhelm, 2012; Abel et al., 2013; Rasch & Born, 2013; Hanert et al., 2017), although the underlying neural mechanisms remain poorly understood.

According to cognitive (Carpenter, 2009; Pyc & Rawson, 2010) and neurobiological theories of retrieval-mediated learning (Antony et al., 2017), the presentation of cues linked to targets during retrieval practice benefits memory via the co-activation of semantically related information. The co-activation of a memory network not only strengthens episode-unique information leading to increased specificity but also seems to be central in promoting generalized knowledge that can be transferred to a wide variety of situations (Ferreira et al., 2019). Similarly, neurobiological theories on systems consolidation argue that the repeated reactivation of recently acquired memories during sleep, either spontaneously or by presenting cues associated with the encoding of the event, leads to the formation of schematic versions of detailed representations initially encoded in the hippocampus that subsequently are transferred to the neocortex, facilitating their integration into existing knowledge schemas (Alvarez & Squire, 1994; McClelland et al., 1995; Nadel & Moscovitch, 1997; Squire, 2004; Frankland & Bontempi, 2005; Lewis & Durrant, 2011; Winocur & Moscovitch, 2011; Robin & Moscovitch, 2017). Recent evidence goes further by suggesting that sleep and retrieval processes cooperate to facilitate long-term memory consolidation (Himmer et al., 2019). The authors of this study showed that sleep is required to stabilize cortical reorganization of memory triggered by repetitive recall during memory acquisition. However, although online retrieval and offline reactivation during sleep might jointly contribute to memory consolidation through similar mechanisms, sleep is thought to prioritize weak memories (Kuriyama et al., 2004; Drosopoulos et al., 2007; Peters et al., 2007; Djonlagic et al., 2009; Diekelmann et al., 2010; Sio et al., 2013; Creery et al., 2015; McDevitt et al., 2015; Cairney et al., 2016; Dumay, 2016; van de Ven et al., 2016; Schapiro et al., 2017; Denis et al., 2020; Baena et al., 2020; Walker et al., 2020; Petzka et al., 2021), whereas repeated testing mainly prioritizes strong memories (Benjamin & Tullis, 2010; Kornell et al., 2011; Rowland, 2014). In the present study, we tested the hypothesis that repeated testing might still play an important role in the consolidation of poorly encoded memories if the stabilization processes have already been initiated during post-training sleep.

In a previous study, we showed that restricting sleep to 4 h reduced stability of EEG-activity patterns throughout the repeated encoding of stimuli relative to a group of participants that was allowed to sleep 8 h (Baena et al., 2020). After a full night of recovery sleep, the group that had been submitted to sleep restriction the night before showed longer-lasting reinstatement of content-specific encoding activity during the first recognition test compared to controls, which was crucial to achieving equivalent performance scores. Interestingly, increasing coupling between slow oscillations (SOs) and spindles (SPs) in the post-training night, which has been proposed as a key mechanism of overnight memory

consolidation (Mölle et al., 2009, 2011; Niknazar et al., 2015; Staresina et al., 2015; Batterink et al., 2016; Maingret et al., 2016; Latchoumane et al., 2017; Helfrich et al., 2018; Zhang et al., 2018; Jiang et al., 2019a, 2019b; Muehlroth et al., 2019), was associated with reduced stability of neural encoding in the prior awake period and also with prolonged reinstatement of episode-unique encoding activity at the time of retrieval in the subsequent awake period, supporting the idea that weakly encoded memories are prioritized for consolidation during sleep (Baena et al., 2020).

In the present study, we are using part of the data set analyzed in the prior survey (Baena et al., 2020) to determine whether the impact of sleep restriction on the stability of neural encoding moderates the joint contribution of sleep-dependent consolidation processes and subsequent repeated testing on the reinstatement of neural encoding-activity. For the sake of consistency across studies, we included the same variables used in the prior work (Baena et al., 2020). Thus, we relied on the same original measure of neural stability patterns across multiple encoding of stimuli and on the same measure of coupling between SOs and SPs during N3 of post-training sleep. However, while previous research was focused on reinstatement of content-specific encoding activity during the first retrieval test; the present study seeks to assess the extent to which the degree of neural stability during encoding and the associated changes in SO-SP coupling during subsequent sleep accounts for variability in reinstatement of both content-specific and category-specific encoding-activity patterns across multiple retrieval attempts.

We hypothesize that repeated retrieval processes rather than sleep-dependent processes will contribute to enhance reinstatement of both categorical and episode-unique representations for those stimuli eliciting stable neural patterns across repetitions during encoding. This hypothesis is supported by evidence indicating that online retrieval during encoding promotes strengthening of both specific (Karlsson Wirebring et al., 2015; Ferreira et al., 2019) and categorical memory representations (Ferreira et al., 2019) and by evidence suggesting that weak memories relative to stronger ones benefit more from sleep-dependent consolidation (Kuriyama et al., 2004; Drosopoulos et al., 2007; Peters et al., 2007; Djonlagic et al., 2009; Diekelmann et al., 2010; Sio et al., 2013; Creery et al., 2015; McDevitt et al., 2015; Cairney et al., 2016; Dumay, 2016; van de Ven et al., 2016; Schapiro et al., 2017; Denis et al., 2020; Baena et al., 2020; Walker et al., 2020; Petzka et al., 2021). However, when the capacity to consistently reactivate networks associated with the detailed differences between memories is impaired, like after a night of sleep restriction (Baena et al., 2020) or sleep deprivation (Poh & Chee, 2017a, 2017b), the joint contribution of subsequent sleep and repeated testing is more likely to promote reinstatement of category-specific encoding activity. Although this kind of reinstatement might lead to interference, it can also provide an opportunity for identifying regularities across similar memories that might be critical for the construction of generalized knowledge (Robertson, 2018). The moderated role of encoding stability on the relationship between sleep and retrieval processes to foster generalization in favor of differentiation is expected to be particularly evident in the group of participants that was submitted to sleep restriction in the night before memory acquisition, because this group showed less stable encoding-activity patterns over repeated presentations than the normal sleep duration group (Baena et al., 2020).

## 2. Material and methods

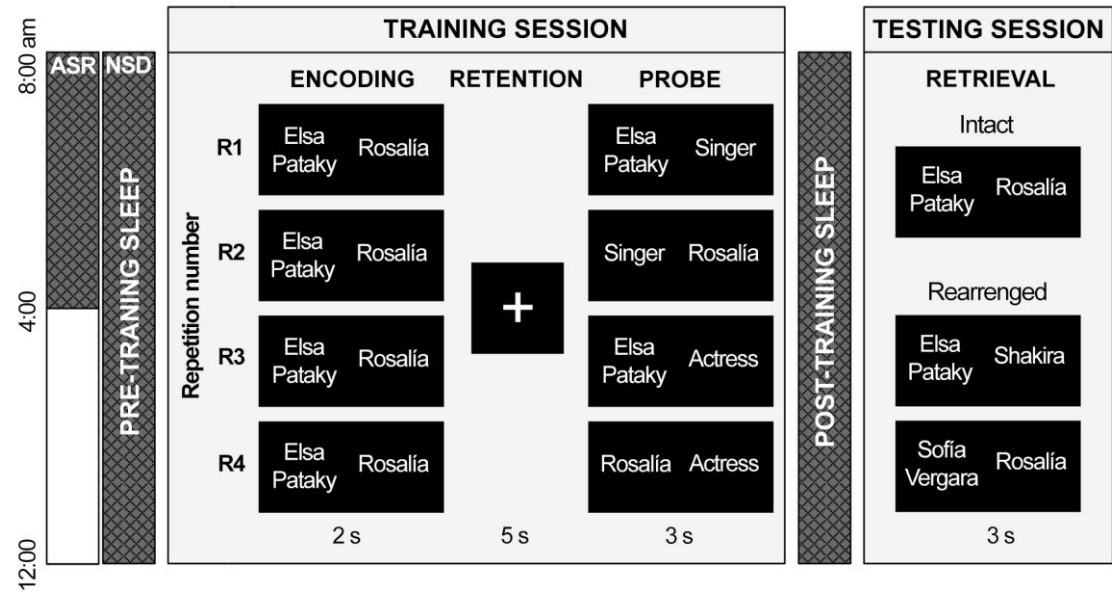
### 2.1. Participants

Twenty-seven University students gave written informed consent to participate in the study. One participant was excluded from the analysis due to an insufficient number of trials across repeated testing. The final sample consisted of 26 participants [age  $21.7 \pm 2.7$  (mean  $\pm$  SD), range 18-27 yr, 14 females] with normal or corrected-to-normal vision, regular sleep habits confirmed by sleep-diaries, and no history of neurological and/or psychiatric diseases. Participants were instructed to abstain from drugs, alcohol, and caffeine, as well as from taking naps for the week before the first experimental session until the experiment was finished. Participants were randomly assigned to either the normal sleep duration group (NSD = 12) or the acute sleep restriction group (ASR = 14). This research was approved by the Ethical Committee for Human Research at the Pablo de Olavide University according to the principles outlined in the Declaration of Helsinki.

### 2.2. Stimuli and experimental design

The stimuli and experimental design used in the present study have been described in detail elsewhere (Alberca-Reina et al., 2014, 2015; Baena et al., 2020). Briefly, the stimuli consisted of pairs of famous people's faces (oval faces in gray-scale) obtained from pictures of celebrities whose professions were actor, singer, or TV host/newsreader. A schematic representation of the protocol and memory task is shown in Figure 1. The task included a training phase in the evening (6:30 PM), after participants slept in the laboratory for either 8 h (12:00-8:00 AM; NSD group) or the last 4 h of the previous night (4:00-8:00 AM; ASR group); and a testing phase after a full night's sleep in the laboratory (12:00 PM). The whole procedure is described in detail in the Supplementary Material.

During the training phase, participants were presented with 48 pairs of faces corresponding to different celebrities of the same sex, half of them with the same profession (ie, semantically congruent) and the other half with a different profession (i.e., semantically incongruent). The procedure for the selection of famous faces is described in detail in the Supplementary Material. Face pairs were presented in 2 consecutive blocks (24 pairs per block) that were repeated 4 times. The order of face pairs within each block was randomized. The trial began with a cross on the center of the screen for 2 s, followed by a face pair for another 2 s (encoding period), and by a retention period of 5 s during which participants retained faces, their location, and profession while fixating on a cross that appeared in the center of the screen. The trial finished with a probe stimulus for 3 s including a face and a word referring to a particular profession.



**Figure 1. Overview of the experimental protocol and memory task.** Two groups of participants were trained in the evening (6:30pm) following a night of either normal sleep duration (NSD; from 12:00 AM to 8:00 AM) or acute sleep restriction (ASR; from 4:00 AM to 8:00 AM) in the sleep laboratory. During the training session, participants were presented with face-face associative pairs for 2 s. Faces always corresponded to celebrities. In the trial example, faces of an actress and a singer (semantically incongruent professions), Elsa Pataky and Rosalía, were shown together. After a retention period of 5 s, participants were asked to indicate if the profession and face corresponded with the faces they had previously encountered in that particular location. This association was presented 4 times (R1, R2, R3, R4). The testing session took place the next day (12:00 PM) after a regular night of sleep in the laboratory (from 12:00 AM to 8:00 AM). During the testing session, participants performed a recognition task where they should indicate whether or not they had seen that particular combination of faces in the prior evening. Each combination of faces (intact and rearranged) was also presented 4 times. EEG was continuously recorded during sleep in the two consecutive nights as well as during the training and recognition task.

Participants were asked to indicate via button press whether the face and profession presented on the left and right side corresponded to the study face that appeared in that particular position during the encoding period. The probe, and consequently the response, changed across the four repetitions of the face pair. In order to enhance sleep-dependent consolidation, participants were informed that memory for face-face associations would be evaluated the next morning (Rauchs et al., 2011; Saletin et al., 2011; Wilhelms et al., 2011; van Dongen et al., 2012; Merhav et al., 2015; Bennion et al., 2016; Alger et al., 2019).

During the testing phase, all faces were presented both coupled with the same face as in the training phase (intact condition), and recombined with a different face (rearranged condition), while controlling that the rearrangement maintained the left-right relationship, sex, and semantic context (same or different profession) of the training phase. As in the training phase, each face pair (intact and rearranged) was repeated 4 times in alternating blocks without feedback. Participants were asked to respond via button press as fast and accurately as possible as to whether or not the two faces had been presented together during the training phase in the prior evening.



### 2.3. EEG data acquisition and preprocessing

EEG data from 59 scalp electrodes (Grass, USA) positioned according to the extended International 10-20 system were recorded at a sampling rate of 250 Hz while participants performed the training and testing phase, as well as while sleeping in the laboratory both in the pre- and post-training night. Additional electrodes were placed to record vertical and horizontal eye movements and to monitor submental muscle tone. Signals referenced to linked mastoids were amplified (BrainAmp MR, Brain Vision®) and bandpass-filtered between 0.1-100 Hz.

EEG data acquired during the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> repetition of face pairs during the training phase and the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 4<sup>th</sup> repetition of face pairs during testing was preprocessed following the same procedure described previously (Baena et al., 2020). First, independent component analysis (ICA) as implemented in the BrainVision Analyzer software v.1.05 (Brain ProductsV® GmbH) was applied to remove eye movements, blinks, and muscle artifacts. Next, continuous recordings were divided into epochs of 1300 ms, ranging from -300 ms to 1000 ms post stimulus onset. The remaining noisy EEG epochs were removed manually. Artifact-free epochs were transformed into the common average reference, and band-pass filtered (0.5-30 Hz) using a finite impulse response based on Kaiser's window. The pre-stimulus interval (-300 to -100 ms) was used for baseline removal procedure.

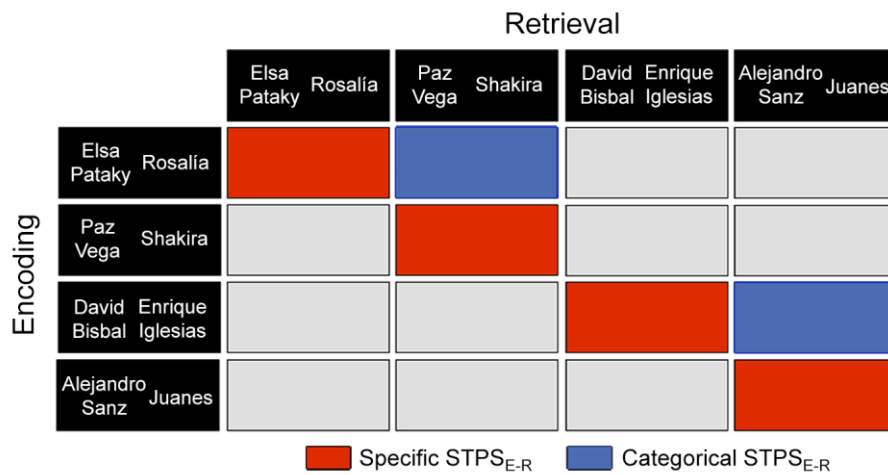
### 2.4. Spatiotemporal EEG pattern similarity analysis

First, face pairs during the training phase were sorted depending on whether they were remembered or forgotten during the testing phase. In the present study, we only analyzed face pairs that were subsequently remembered. We computed the degree of spatiotemporal pattern similarity (STPS) across repetitions of the same face pair as a measure of the stability of content-specific encoding activity. Here, we only used the STPS computed between EEG-activity patterns associated with the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> repetition (hereafter STPS<sub>E3-E4</sub>) because we previously showed that differences between both groups only became evident after the 4<sup>th</sup> repetition (Baena et al., 2020). Importantly, we also demonstrated that the stability of content-specific encoding activity was greater for remembered than for forgotten face pairs (a detail description of these results were included in the Supplementary Material). This finding is consistent with previous studies showing an association between greater stability of activation patterns across repeated study and successful memory encoding (Xue et al., 2010; LaRocque et al., 2013; Visser et al., 2013; Lu et al., 2015; Xiao et al., 2016; Zheng et al., 2018).

To assess STPS, we implemented the approach described in previous studies (Lu et al., 2015; Sols et al., 2017; Baena et al., 2020). Before computing STPS, Scalp EEG electrodes were grouped into six regions of interest (ROIs). To obtain more stable spatial patterns, the electrodes in the border of two regions were included in both regions (ROI 1 [left frontal]: Fpz, Fp1, AFz, AF3, AF7, Fz, F1, F3, F5, F7, FCz, FC1, FC3, FC5, FT7; ROI 3 [left central]: FCz, FC1, FC3, FC5, FT7, Cz, C1, C3, C5, T7, CPz, CP1, Cp3, CP5, TP7; ROI 5 [left parietal]: CPz, CP1, Cp3, CP5, TP7, Pz, P1, P3, P5, P7, POz, PO3, PO7, Oz, O1; and the homologous electrodes for the ROIs 2, 4, and 6 in the right hemisphere). For each correctly remembered face pair, we constructed spatiotemporal vectors including the mean EEG voltage from one of the six regions, and a sliding window of 200 ms (50 time points, from 0 to 1000 ms post-stimulus onset) in time steps of one time point as representative of spatial and temporal features,

respectively. The temporal data were finally grouped into 20 ms bins, resulting in 40 time points.

To evaluate reinstatement of encoding-related EEG-activity patterns, we computed encoding-retrieval similarity (hereafter  $STPS_{E-R}$ ) via Pearson correlation between EEG patterns associated with the 4<sup>th</sup> repetition during the training phase and EEG patterns produced by the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 4<sup>th</sup> repetition during the testing phase. For this analysis, we only included EEG epochs associated with the intact presentation of face pairs. To address reinstatement of activation patterns shared by categorically related memories (i.e., categorical  $STPS_{E-R}$ ), similarity analysis was applied to spatiotemporal vectors of different face pairs sharing sex and profession; whereas for evaluating reinstatement of activation patterns associated with episodic details (i.e., specific  $STPS_{E-R}$ ), similarity analysis was applied to spatiotemporal vectors of the same face pairs. The resulting correlations were transformed into Fisher's z before performing group statistics. Figure 2 shows a schematic version of the procedure employed to compute categorical and specific similarity between encoding and retrieval sessions.



**Figure 2. Encoding-retrieval similarity ( $STPS_{E-R}$ ) across repeated testing.** For  $STPS_{E-R}$ , Pearson correlation was computed between EEG patterns associated with the 4<sup>th</sup> restudied association during the training phase and EEG patterns associated with every repeated test (2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 4<sup>th</sup> repetition). These analyses were applied to associations correctly recognized during the testing phase. The red boxes refer to similarity computed between EEG patterns associated with identical face pairs (specific  $STPS_{E-R}$ ), while the blue ones refer to similarity computed between EEG patterns produced by face-face associations of the same category (ie, same sex and profession; categorical  $STPS_{E-R}$ ).

## 2.5. Coupling between SPs and SOs

As we were mainly interested in evaluating the contribution of the temporal grouping of SPs by the SO upstate to memory consolidation, and SOs are mainly observed during N3 sleep, both SOs and SPs were identified during N3 sleep of the post-training night. For this, post-training sleep recordings were scored manually in individual 30-s epochs according to the guidelines of the American Academy of Sleep Medicine (Iber et al., 2007). We next applied an automated method for detecting SOs. However, as the performance of automated

SP-detection algorithms is quite poor when compared to human experts and non-experts (Warby et al., 2014), we decided to apply a semi-automatic method based on a visual identification performed by an expert technician.

SOs were automatically identified over frontocentral electrodes (F3, F1, Fz, F2, F4, FC1, FC2, Cz) using a standard detection method (Mölle et al., 2002). In the present study, we focused on the analysis of fast spindles (13-16 Hz) based on their consistent association with memory consolidation processes (Rasch & Born, 2013; Fogel and Smith, 2011) and their strong phase synchronization with the depolarizing upstate of SOs (Mölle et al., 2011; Staresina et al., 2015; Coppieters 't Wallant et al., 2016). To this aim, we first performed a manual identification based on a few electrodes (F3, F4, C3, Cz, C4, P3, Pz, P4, O1, O2) followed by an automatic analysis based on the algorithm described by Mölle and collaborators (Mölle et al., 2002). In line with previous data comparing automated SP detection with expert manual SP scoring (Ray et al., 2015), start and end markers were manually placed in the EEG location that showed maximum amplitude if the SP fulfilled the following criteria: (i) duration varying between 0.5 and 3 s; (ii) minimum amplitude of 15  $\mu$ V; (iii) fusiform morphology; and (iv) minimum inter-spindle interval of 1 s (Urakami et al., 2012). To reduce the number of false positives, the time window established by manual markers was used for the automatic identification of SPs. Although fast SPs are more evident over centroparietal locations as opposed to the more frontocentral expression of slow SPs (Andrillon et al., 2011; Cox et al., 2017), evidence has shown that fast SPs are modulated by the SOs even at sites where they are less prominent (Cox et al., 2018), and that not only centroparietal but also frontocentral fast SPs can be a key determinant of offline memory consolidation (Mander et al., 2017; Cairney et al., 2018; Baena et al., 2020). Building on this evidence, the automatic identification of SPs was run at anterior and posterior electrodes (F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8, TP7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz, P2, P4, P6, P8).

The SO-SP coupling was determined using the approach developed by Mölle and colleagues (Mölle et al., 2002). Briefly, event correlation histograms of fast SPs were referenced to the negative half-wave peaks of the SOs using 6 s windows with 3 s offsets and a bin size of 48 ms. For SP counts, SP peaks and troughs of all detected SPs were computed from all EEG electrodes used for their identification. SP counts in each time bin were divided by the number of SOs and then divided by the bin width to obtain the event rate per second (Hz). The resulting signal was baseline corrected after applying mean centering to each EEG electrode. We averaged the values corresponding to the bins representing the highest portion of the upstate for subsequent analyses.

## 2.6. Statistical analysis

We applied linear mixed models because this approach allows for random intercepts across participants and across time in the case of STPS, which, in turn, reduces the variance of fixed effect estimates (Clark et al., 2015).

For analysis of performance during the recognition task, we analyzed reaction time (RT) to hits, performance sensitivity ( $d'$ ) and decision criterion ( $C$ ) based on signal detection theory (Harvey, 1992). On a preliminary basis, we specified an intercept model with participants as random factor. This served as the null baseline model on which the two subsequent models were built upon. In the first step, we added group (NSD, ASR) and repeated retrieval (R1, R2, R3, R4) as main fixed predictors. In the second step, we added the two-way

interaction term. Models were specified using the *lme4* package (Bates et al., 2015) in R (R Core Team, 2016) via restricted maximum likelihood estimation. These models were statistically compared to each other using the ANOVA function. The null hypothesis for the different predictors added to successively complex models was rejected if the ANOVA revealed a significant improvement of the model's fit to the data, which implies a significant increase in variance.

The relationship between stability of neural encoding (i.e.,  $STPS_{E3-E4}$ ), SO-SP coupling, and reinstatement of encoding activity across repeated testing (i.e., categorical and specific  $STPS_{E-R}$ ) was also evaluated using linear mixed models with participants and time (i.e., 40 time points across which  $STPS_{E3-E4}$  and  $STPS_{E-R}$  were computed) as nested random intercepts. We specified a four-step mixed effects model for both categorical and specific  $STPS_{E-R}$ . We added the four main predictors in the first step (i.e., two continuous variables such as  $STPS_{E3-E4}$  and SO-SP coupling, and two categorical factors as repeated testing and ROI); whereas the two-, three- and four-way interactions were sequentially added in subsequent steps.

To test whether the relationship between stability of encoding activity, SO-SP coupling, and reinstatement of encoding activity across repeated testing differed between groups, we specified an additional four-step model including group as predictor with data from the ROI where the previous association was most evident. In all cases, continuous variables were mean-centered.

For each model, we reported the estimates, confidence intervals (95%), and approximate p-values of fixed terms based on the t-statistics and using the normal distribution function. We further report the Akaike's information criterion (AIC), the number of observations, the marginal  $R^2$  (variance of the fixed effects), conditional  $R^2$  ( $\Omega_o^2$ , variance of the fixed and random effects) and the intraclass correlation coefficient (ICC) (Nakagawa et al., 2017). The F tests are based on the Satterthwaite's approximation to degrees of freedom (Kuznetsova et al., 2017).

### 3. Results

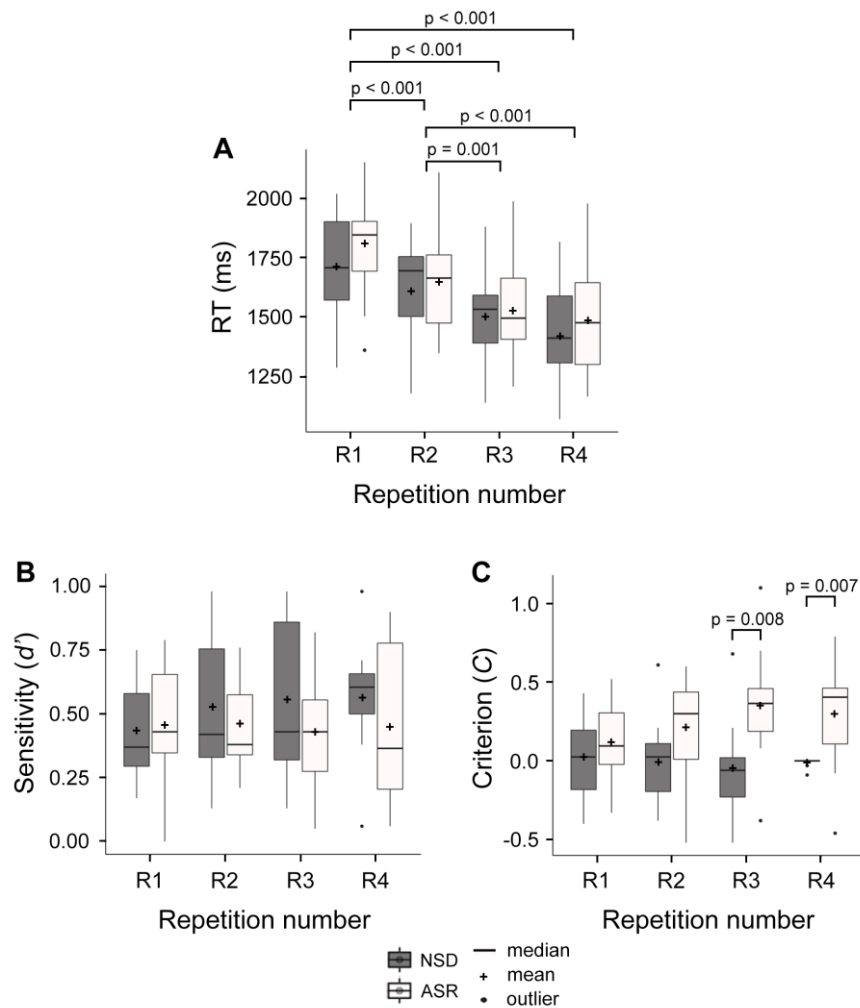
#### 3.1. Recognition memory performance

The model including the two main predictors (i.e., group and repeated testing) provided a better fit to the data than the intercept-only model for both RT ( $\chi^2(4) = 83.6$ ,  $p < 10^{-15}$ ) and decision criterion  $C$  ( $\chi^2(4) = 78.2$ ,  $p < 10^{-15}$ ), as did the model including the two-way interaction term when compared to the model including main predictors, but only for the decision criterion  $C$  ( $\chi^2(3) = 8.97$ ,  $p = 0.03$ ). No model fit improvement was found for the sensitivity measure  $d'$ , indicating that the null hypothesis was not rejected for either the main or interaction effect.

Results derived from the two-step mixed effects model for RT,  $d'$  and  $C$  are shown in Tables 1-3, respectively. Figure 3A illustrates the progressive decrease of RT throughout repetitive tests for correctly recognized intact face pairs ( $F_{3,78} = 49.9$ ,  $p < 10^{-15}$ ). The analysis of the model indicated a reduction of RT from R1 to R2 (estimate = -18.34,  $p < 0.001$ ) and from R2 to R3 (estimate = -16.6,  $p = 0.001$ ), but not additional gain was found from R3 to R4 (estimate = -5.93,  $p = 0.2$ ). The model failed to reject the null hypothesis for the main effect

of group (Table 1, model 1) and for the repeated testing  $\times$  group interaction (Table 1, model 2).

Figure 3B and 3C illustrates changes in sensitivity and decision criterion based on  $d'$  and  $C$  indexes, respectively. Neither sleep manipulation in the night before memory acquisition (Table 2, model 1), nor repeated testing (Table 2, model 1), nor the interaction term (Table 2, model 2) affected  $d'$  scores. On the contrary, the mixed-effects model for the decision criterion  $C$  yielded a main effect of repeated testing ( $F_{3,78} = 45.6$ ,  $p < 10^{-15}$ ; Table 3, model 1), as well as a repeated testing  $\times$  group interaction ( $F_{3,78} = 3.2$ ,  $p = 0.029$ ; Table 3, model 2). As illustrated in Figure 3C, the group that was submitted to sleep restriction in the night before memory acquisition showed a bias to say “new” in response to intact face-face associative pairs relative to the group that slept 8 h after R3 (estimate = 0.9,  $p = 0.008$ ) and R4 (estimate = 0.92,  $p = 0.007$ ) when compared to R1 (Table 3, model 2), but no group differences were found when compared to R2.



**Figure 3. Effect of sleep restriction and repeated testing on different indices of memory recognition.** Box plots of RT for hits (A), sensitivity  $d'$  index (B), and decision criterion  $C$  (C) for each group (NSD and ASR) and repeated test. Horizontal lines are medians, crosses are means, boxes show the interquartile range representing 50% of the cases, and whisker bars extend to 1.5 times the interquartile range. Black circles represent the value of outliers. P-values for the repeated test factor are shown in A, while C shows the results of post hoc tests for the interaction. Neither main effects nor interaction were found in B.

**Table 1 Mixed-effects regression of repeated testing and group on RT**

<i>Predictors</i>	<b>Model 1</b>			<b>Model 2</b>		
	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	322.81	307.99 – 337.64	<b>&lt;0.001</b>	325.20	309.84 – 340.56	<b>&lt;0.001</b>
R2	-18.34	-25.67 – -11.02	<b>&lt;0.001</b>	-21.87	-31.73 – -12.01	<b>&lt;0.001</b>
R3	-33.68	-41.01 – -26.36	<b>&lt;0.001</b>	-38.03	-47.88 – -28.17	<b>&lt;0.001</b>
R4	-42.29	-49.62 – -34.97	<b>&lt;0.001</b>	-43.96	-53.82 – -34.10	<b>&lt;0.001</b>
Group	-7.71	-28.50 – 13.09	0.467	-12.87	-35.49 – 9.74	0.265
R2*Group				7.64	-6.87 – 22.15	0.302
R3*Group				9.41	-5.10 – 23.92	0.204
R4*Group				3.61	-10.90 – 18.12	0.626
<b>Random Effects</b>						
AIC	922.20			926.28		
$\sigma^2$	181.48			177.07		
$\tau_{00, Participant}$	681.97			683.07		
N Participant	26			26		
ICC Participant	0.79			0.79		
Observations	104			104		
$R^2 / \Omega_0^2$	0.242 / 0.841			0.245 / 0.845		

Reference category for repeated testing (R1) / Reference category for group (NSD)

Abbreviations: AIC, Akaike's information criterion; CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient

**Table 2 Mixed-effects regression of repeated testing and group on  $d'$** 

<i>Predictors</i>	<b>Model 1</b>			<b>Model 2</b>		
	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	-0.02	-0.51 – 0.46	0.922	-0.12	-0.64 – 0.39	0.639
R2	0.07	-0.27 – 0.42	0.671	0.20	-0.26 – 0.66	0.397
R3	0.11	-0.23 – 0.45	0.532	0.23	-0.24 – 0.69	0.336
R4	-0.06	-0.40 – 0.28	0.742	0.10	-0.36 – 0.56	0.675
Group	-0.02	-0.66 – 0.62	0.961	0.20	-0.56 – 0.97	0.606
R2*Group				-0.27	-0.95 – 0.41	0.432
R3*Group				-0.26	-0.94 – 0.43	0.462
R4*Group				-0.34	-1.02 – 0.34	0.330
<b>Random Effects</b>						
AIC	262.16			268.06		
$\sigma^2$	0.40			0.39		
$\tau_{00, Participant}$	0.59			0.59		
N Participant	26			26		
ICC Participant	0.60			0.60		
Observations	104			104		
$R^2 / \Omega_0^2$	0.004 / 0.601			0.009 / 0.606		

Reference category for repeated testing (R1) / Reference category for group (NSD)

Abbreviations: AIC, Akaike's information criterion; CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient



**Table 3 Mixed-effects regression of repeated testing and group on C**

<i>Predictors</i>	<b>Model 1</b>			<b>Model 2</b>		
	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	-1.37	-1.67 – -1.07	<b>&lt;0.001</b>	-1.10	-1.45 – -0.75	<b>&lt;0.001</b>
R2	1.62	1.27 – 1.98	<b>&lt;0.001</b>	1.37	0.91 – 1.82	<b>&lt;0.001</b>
R3	1.60	1.25 – 1.95	<b>&lt;0.001</b>	1.18	0.73 – 1.64	<b>&lt;0.001</b>
R4	1.59	1.24 – 1.94	<b>&lt;0.001</b>	1.16	0.71 – 1.62	<b>&lt;0.001</b>
Group	0.37	0.06 – 0.67	<b>0.018</b>	-0.23	-0.74 – 0.28	0.384
R2*Group				0.56	-0.11 – 1.23	0.102
R3*Group				0.90	0.23 – 1.57	<b>0.008</b>
R4*Group				0.92	0.25 – 1.59	<b>0.007</b>
<b>Random Effects</b>						
AIC	230			227		
$\sigma^2$	0.42			0.38		
$\tau_{00, Participant}$	0.05			0.06		
N Participant	26			26		
ICC Participant	0.60			0.60		
Observations	104			104		
$R^2 / \Omega_0^2$	0.524 / 0.574			0.559 / 0.620		

Reference category for repeated testing (R1) / Reference category for group (NSD)

Abbreviations: AIC, Akaike's information criterion; CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient

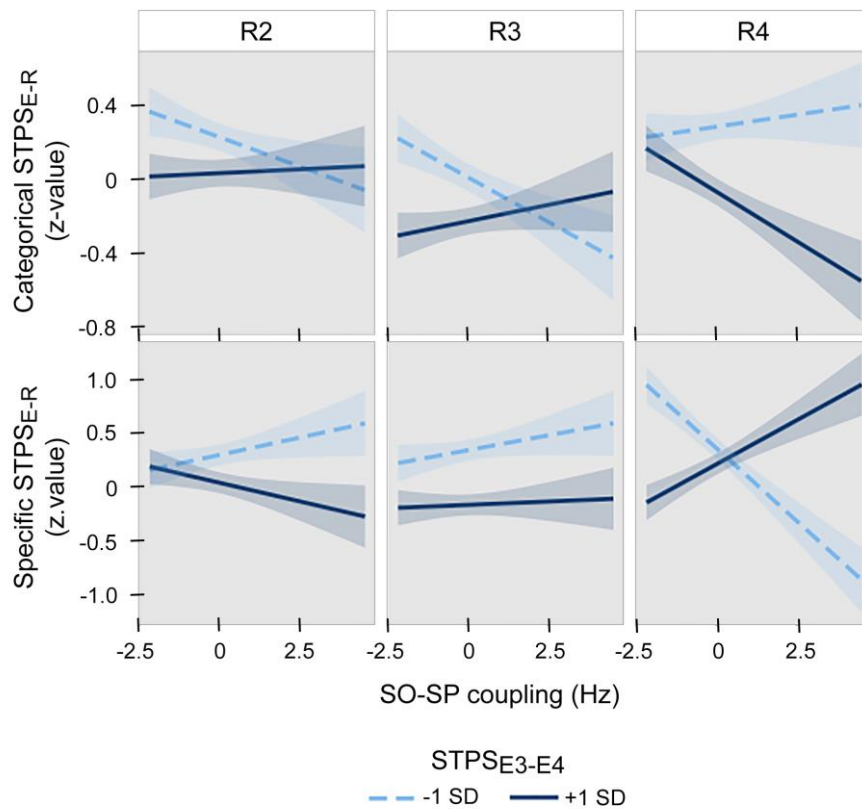
### 3.2. Regression of STPS<sub>E3-E4</sub>, SO-SP coupling, and repeated testing on STPS<sub>E-R</sub>

Group differences in the STPS<sub>E3-E4</sub> as well as in the macrostructure and microstructure of sleep were reported in the prior study (Baena et al., 2020) but have also been summarized in the Supplementary Material. Figure S1 further illustrates the effect of sleep restriction on SO-SP coupling.

We applied a four-step model to evaluate whether the association of SO-SP coupling with categorical and specific STPS<sub>E-R</sub> across repeated testing was moderated by STPS<sub>E3-E4</sub> on certain ROIs. The addition of the four-interaction term to model 4 provided a better model fit in comparison with the three-way interaction terms included in model 3 for both categorical ( $\chi^2(10) = 28.7, p < 0.001$ ) and specific STPS<sub>E-R</sub> ( $\chi^2(10) = 247.5, p < 10^{-15}$ ).

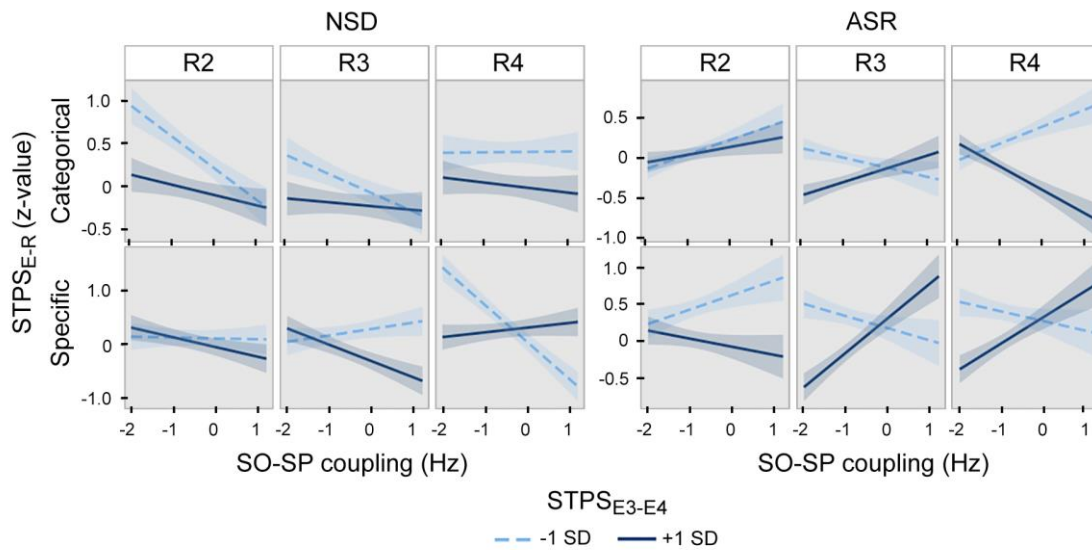
Tables S1 and S2 included in the Supplementary Material show results from model 1 to model 4 for categorical and specific STPS<sub>E-R</sub>, respectively. Figure 4 depicts the regression of SO-SP coupling, repeated testing, and ROI at one standard deviation below and above the mean of STPS<sub>E3-E4</sub> on both categorical (top panel) and specific STPS<sub>E-R</sub> (bottom panel) recorded from ROI 1. For memories showing smaller STPS<sub>E3-E4</sub>, repeated testing reverted from negative (R2 and R3) to positive (R4) the association between SO-SP coupling and categorical STPS<sub>E-R</sub> (Figure 4, top panel), particularly in ROI 1 when compared to ROI 5 (estimate = 1.02,  $p < 0.001$ ), where the same pattern of results was observed for memories showing greater STPS<sub>E3-E4</sub>. Figure 4 (bottom panel) shows the parallel, opposite pattern of results for the association between SO-SP coupling and specific STPS<sub>E-R</sub>, especially in ROI 1 when compared to ROI 4 (estimate = -2.61,  $p < 0.001$ ).

Next, we evaluated whether the association between STPS<sub>E3-E4</sub>, SO-SP coupling and STPS<sub>E-R</sub> across repeated testing, which was mainly evident in ROI 1, was stronger in the ASR group compared to the NSD group. For sake of clarity, and to avoid the inclusion of a five-way interaction term, we restricted the analysis to data from ROI 1. Therefore, we specified four-step mixed effects models for both categorical and specific STPS<sub>E-R</sub>. In the case where categorical STPS<sub>E-R</sub> was the dependent variable, model 4 accounted for a significant increase in variance, indicating the presence of a significant four-way interaction for STPS<sub>E3-E4</sub>  $\times$  SO-SP coupling  $\times$  repeated testing  $\times$  group ( $\chi^2(4) = 21.9, p = 0.0002$ ). The same applies when the specific STPS<sub>E-R</sub> was included as dependent variable ( $\chi^2(4) = 72.8, p < 10^{-15}$ ).



**Figure 4. Relationship between  $STPS_{E3-E4}$  and SO-SP coupling on categorical and specific  $STPS_{E-R}$  across repeated testing.** Association of SO-SP coupling with both categorical and specific  $STPS_{E-R}$  at one standard deviation below and above the mean of  $STPS_{E3-E4}$  in the left frontal ROI for every repeated test, where the four-way interaction term was most evident. The shades areas reflect the confidence bands (95%) for the fitted values.

Tables S3 and S4 included in the Supplementary Material show results from model 1 to model 4 for categorical and specific  $STPS_{E-R}$ , respectively. Figure 5 (left panel) plots the regression of  $STPS_{E3-E4}$  and SO-SP coupling on categorical  $STPS_{E-R}$  across repeated testing at one standard deviation below and above the mean of  $STPS_{E3-E4}$  for the NSD and ASR group, respectively. Figure 5 (right panel) depicts the same regression for specific  $STPS_{E-R}$ . Relative to the NSD group, participants of the ASR group showed a stronger positive association of SO-SP coupling with categorical  $STPS_{E-R}$  from R3 to R4 for memories with smaller  $STPS_{E3-E4}$  (estimate = -1.08,  $p = 0.003$ ), which was paralleled by a negative association with specific  $STPS_{E-R}$  (estimate = -3.12,  $p < 0.001$ ).



**Figure 5. Relationship between  $STPS_{E3-E4}$  and SO-SP coupling on categorical and specific  $STPS_{E-R}$  across repeated testing for the NSD and ASR group.** Association of SO-SP coupling with both categorical and specific  $STPS_{E-R}$  at one standard deviation below and above the mean of  $STPS_{E3-E4}$  in the left frontal ROI for every repeated test, for the NSD and ASR group, separately. The shades areas reflect the confidence bands (95%) for the fitted values.

#### 4. Discussion

In a previous study, we demonstrated that restricting sleep to the last 4 h of the night reduced neural pattern similarity across presentations of face pairs during encoding when compared to participants who were allowed to sleep 8 h (Baena et al., 2020). Although the stability of pattern reinstatement across repetitions during encoding predicts how well is the event later remembered (Xue et al., 2010; LaRocque et al., 2013; Visser et al., 2013; Lu et al., 2015; Xiao et al., 2016; Zheng et al., 2018), sleep restriction did not affect performance in the recognition memory task. The resistance to forgetting shown by the sleep-restricted group during the first recognition test was partially due to sleep-dependent consolidation processes and the longer-lasting reinstatement of content-specific encoding activity at the time of retrieval (Baena et al., 2020).

The present study went a step further by investigating whether cortical reinstatement associated with successful retrieval across repeated testing is also linked to sleep consolidation processes in the prior night and whether such an interaction is moderated by the stability of neural encoding. For unstable memories, results showed that increased coupling of SOs and SPs during recovery sleep was associated with increasing reinstatement across repeated testing of category-specific encoding activity in frontal regions (i.e., an index of enhanced generalization) and with decreasing reinstatement of content-specific encoding activity in the same regions (i.e., an index of specificity loss), whilst the opposite was true for memories showing greater neural stability at encoding. The moderating role of encoding stability became even more evident in the group of participants that was submitted to sleep restriction the night before memory acquisition, supporting the notion

that weakly encoded memories are prioritized for sleep consolidation and subsequent testing-induced generalization.

Our results are consistent with previous results linking SP density during overnight sleep to enhanced category-specific pattern similarity in the prefrontal cortex the next day, while restudying information learned before sleep (Cowan et al., 2020). These findings extended the role of SPs from purely stabilizing recently acquired memory traces, to one that also involves promoting enduring neural changes associated with the restructuring of memory representations. Likewise, results of the current study suggest that SPs nested into the upstate of SOs may be critical in supporting not only the sleep-dependent reorganization and stabilization of memory traces during sleep (Mölle et al., 2009, 2011; Niknazar et al., 2015; Staresina et al., 2015; Batterink et al., 2016; Maingret et al., 2016; Latchoumane et al., 2017; Helfrich et al., 2018; Zhang et al., 2018; Jiang et al., 2019a, 2019b; Muehlroth et al., 2019) but also in shaping the future restructuring of neural memory representations reactivated by complete (recognition) or partial (cue) reminders during intentional retrieval.

Importantly, our results showed that the stability of neural activity patterns across repeated study moderated the joint contribution of sleep and retrieval processes to cortical reinstatement, thereby determining the reorganization of memory traces and consequently the likelihood of integration. The fact that the interaction effect had been restricted to the left frontal lobe is consistent with previous evidence linking the prefrontal cortex, particularly its ventromedial portion, to sleep-dependent consolidation processes (Takashima et al., 2006, 2007, 2009, Sterpenich et al., 2007, 2009; Sekeres et al., 2018) and to integration mechanisms in the service of generalization in episodic memory (Xu et al., 2012; Bowman et al., 2018; Cowan et al., 2020).

In the present study, the sleep-retrieval interplay promoted specificity of strong memories (i.e., memories showing stable pattern reinstatement during encoding) and generalization of weak memories (i.e., memories showing unstable pattern reinstatement during encoding). The latter result was further supported by the growing conservative trend shown by the sleep restriction group across repeated tests relative to controls. The shift in the decision criterion might be promoted by reactivation of memory traces decreasingly specific, which, in turn, might have been contributed to reduce neural excitability in cortical regions that are crucial for memory discrimination (Muckli & Petro, 2017). In line with this hypothesis, there is evidence that changes introduced in sensory encoding, through either modification of task parameters or optogenetic stimulation of primary sensory areas, may alter the decision criterion without affecting discriminability (Jin & Glickfeld, 2019), just like in the present study.

It is generally accepted that reactivation during intentional retrieval induces a transient and labile state (Sara, 2000a, 2000b) during which the memory trace can be disrupted, deleted, or updated and integrated with other overlapped memory traces (McKenzie & Eichenbaum, 2011; Nadel et al., 2012). Our results are in line with the idea that instability induced by intentional retrieval is a gateway to generalization (Robertson, 2018), especially for those memories whose specific details could not be properly encoded in long-term memory. This does not mean that strong memories are not generalized over time, but rather that poorly encoded memories might be at greater risk of overgeneralization, which could be problematic in certain circumstances like threat learning conditions (Starita et al., 2019), anxiety (Lissek et al., 2014), depression and eating disorders (Thew et al., 2017).

Our findings are consistent with a growing body of evidence suggesting that sleep consolidation processes interact with online retrieval processes to transform memory traces (Bäuml et al., 2014; Mazza et al., 2016; Antony et al., 2017; Antony & Paller, 2018; Ferreira et al., 2019; Himmer et al., 2019; Cowan et al., 2020). Nevertheless, our study incorporated important methodological changes that make results hardly comparable. In addition to manipulating the amount of sleep in the pre-training night to interfere with subsequent encoding, repeated testing, rather than restudy (Cowan et al., 2020) or relearning (Mazza et al., 2016), was introduced after post-training sleep, and not during the study phase as in prior studies (Antony & Paller, 2018; Himmer et al., 2019; Baena et al., 2020); and instead of comparing changes in brain responses after sleep and wakefulness (Himmer et al., 2019), we evaluated the correlation of SO-SP coupling during overnight sleep with changes in pattern similarity between encoding and retrieval across multiple repeated tests. Taken together, these results suggest that the particular contribution of sleep and retrieval processes to memory consolidation depends on whether repeated testing precedes or follows sleep. While previous results indicate that sleep is necessary for stabilization and maintenance of transformations triggered by retrieval practice during the prior wakefulness (Himmer et al., 2019), our findings show that consolidation processes during sleep cooperate with processes taking place during subsequent repeated testing to balance the trade-off between specificity and generalization depending on whether more or fewer details were encoded during the study phase before sleep.

This research is subject to several limitations that warrant further consideration. The stability of neural encoding was manipulated by restricting sleep the night before; and memory was addressed after a full night's sleep by presenting a complete reminder of the episodic event through the simplest form of testing. Given that sleep benefit seems to be highly dependent on the way that encoding strength is manipulated (Denis et al., 2020) and on the testing conditions (Petzk et al., 2021), our results might not be generalizable beyond the context of this study. The small number of participants per group heightens this limitation.

The study was further limited by the lack of a test to measure recognition memory immediately after training. It is therefore difficult to tell whether memories showing smaller neural stability across encoding trials were also remembered worse than memories showing greater neural stability at the end of the study phase or whether sleep was linked to memory improvements in those participants who were submitted to sleep restriction before memory acquisition. Nevertheless, the inclusion of such a test might have also been an important confounding factor because whilst some studies support the view that immediate retrieval test following learning enhances the sleep benefit (Schoch et al., 2017) others found the opposite (Bäuml et al., 2014; Antony & Paller, 2018). Results of the present study suggest that these discrepancies might be accounted for by the quality of encoding.

Finally, we considered the reinstatement of category-specific encoding activity as a neural index of generalization but did not measure performance transfer of knowledge. This is probably the reason why we found no group differences in performance across repeated tests. Future work should include measurements of neural stability during encoding together with measurements of neural reinstatement at retrieval, and appropriate behavioral indices of memory transfer within different timescales to determine the behavioral correlates of the representational reorganization favored by the interplay between sleep and retrieval processes.

## 5. Conclusion

The present study provided critical evidence that the coordination of SOs and SPs not only is important for stabilizing weak memories during sleep (Mölle et al., 2009, 2011; Niknazar et al., 2015; Staresina et al., 2015; Batterink et al., 2016; Maingret et al., 2016; Latchoumane et al., 2017; Helfrich et al., 2018; Zhang et al., 2018; Jiang et al., 2019a, 2019b; Muehlroth et al., 2019), but also for development of additional reorganization of memory traces triggered by repeated testing during intentional retrieval. Importantly, the study revealed that the restructuring of memory traces provoked by the joint contribution of sleep and retrieval processes is moderated by the stability of neural encoding, which, in turn, might be modulated among other factors by the amount of sleep in the prior night.

## CRedit authorship contribution statement

Daniel Baena: Conceptualization, Methodology, Software, Investigation, Formal analysis, Visualization, Writing – Original draft preparation. José L. Cantero: Conceptualization, Methodology, Resources, Writing – Reviewing & Editing, Funding acquisition. Mercedes Atienza: Conceptualization, Methodology, Resources, Formal analysis, Visualization, Supervision, Writing – Reviewing & Editing, Project administration, Funding acquisition.

## Source of funding

This work was supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (PSI2017-85311-P, SAF2017-85310-R), CIBERNED (CB06/05/1111), the International Center on Aging CENIE-POCTEP (0348\_CIE\_6\_E) and the Research Program for a Long-Life Society (0551\_PSL\_6\_E).

## Declaration of Competing Interest

The authors reported no conflicts of interest in this work.

## Acknowledgements

The authors thank the research staff and laboratory technicians of the Laboratory of Functional Neuroscience for assistance with recruitment, screening, recording and evaluation of the participants.

## References

- Abel T, Havekes R, Saletin JM, Walker MP. Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Curr Biol*. 2013;23:R774-88.
- Alberca-Reina E, Cantero JL, Atienza M. Impact of sleep loss before learning on cortical dynamics during memory retrieval. *Neuroimage*. 2015;123:51-62.
- Alberca-Reina E, Cantero JL, Atienza M. Semantic congruence reverses effects of sleep restriction on associative encoding. *Neurobiol Learn Mem*. 2014;110:27-34.
- Alger SE, Chen S, Payne JD. Do different salience cues compete for dominance in memory over a daytime nap? *Neurobiol Learn Mem*. 2019;160:48-57.
- Alvarez P, Squire LR. Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91:7041-5.
- Andrillon T, Nir Y, Staba RJ, Ferrarelli F, Cirelli C, Tononi G, Fried I. Sleep spindles in humans: insights from intracranial EEG and unit recordings. *J Neurosci*. 2011;31:17821-34.
- Antony JW, Ferreira CS, Norman KA, Wimber M. Retrieval as a Fast Route to Memory Consolidation. *Trends Cogn Sci*. 2017;21:573-576.
- Antony JW, Paller KA. Retrieval and sleep both counteract the forgetting of spatial information. *Learn Mem*. 2018;25:258-263.
- Baena D, Cantero JL, Fuentemilla L, Atienza M. Weakly encoded memories due to acute sleep restriction can be rescued after one night of recovery sleep. *Sci Rep*. 2020;10:1449.
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *J Statist Soft*. 2015;67.
- Batterink LJ, Creery JD, Paller KA. Phase of Spontaneous Slow Oscillations during Sleep Influences Memory-Related Processing of Auditory Cues. *J Neurosci*. 2016;36:1401-9.
- Bäumel KH, Holtermann C, Abel M. Sleep can reduce the testing effect: it enhances recall of restudied items but can leave recall of retrieved items unaffected. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn*. 2014;40:1568-81.
- Benjamin AS, Tullis J. What makes distributed practice effective? *Cogn Psychol*. 2010;61:228-47.
- Bennion KA, Payne JD, Kensinger EA. The impact of napping on memory for future-relevant stimuli: Prioritization among multiple salience cues. *Behav Neurosci*. 2016;130:281-9.
- Born J, Wilhelm I. System consolidation of memory during sleep. *Psychol Res*. 2012;76:192-203.
- Bowman CR, Zeithamova D. Abstract Memory Representations in the Ventromedial Prefrontal Cortex and Hippocampus Support Concept Generalization. *J Neurosci*. 2018;38:2605-2614.
- Cairney SA, Guttesen AÁV, El Marj N, Staresina BP. Memory Consolidation Is Linked to Spindle-Mediated Information Processing during Sleep. *Curr Biol*. 2018;28:948-954.e4.
- Cairney SA, Lindsay S, Sobczak JM, Paller KA, Gaskell MG. The Benefits of Targeted Memory Reactivation for Consolidation in Sleep are Contingent on Memory Accuracy and Direct Cue-Memory Associations. *Sleep*. 2016;39:1139-50.



- Carpenter SK. Cue strength as a moderator of the testing effect: the benefits of elaborative retrieval. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn*. 2009;35:1563-9.
- Clark TS, Linzer DA. Should I Use Fixed or Random Effects? *Pol Sci Res Meth*. 2015;3:399-408.
- Coppieters 't Wallant D, Maquet P, Phillips C. Sleep Spindles as an Electrographic Element: Description and Automatic Detection Methods. *Neural Plast*. 2016;2016:6783812.
- Cowan E, Liu A, Henin S, Kothare S, Devinsky O, Davachi L. Sleep Spindles Promote the Restructuring of Memory Representations in Ventromedial Prefrontal Cortex through Enhanced Hippocampal-Cortical Functional Connectivity. *J Neurosci*. 2020;40:1909-1919.
- Cox R, Mylonas DS, Manoach DS, Stickgold R. Large-scale structure and individual fingerprints of locally coupled sleep oscillations. *Sleep*. 2018 Dec 1;41:zsy175.
- Cox R, Schapiro AC, Manoach DS, Stickgold R. Individual Differences in Frequency and Topography of Slow and Fast Sleep Spindles. *Front Hum Neurosci*. 2017;11:433.
- Creery JD, Oudiette D, Antony JW, Paller KA. Targeted Memory Reactivation during Sleep Depends on Prior Learning. *Sleep*. 2015;38:755-63.
- Denis D, Schapiro AC, Poskanzer C, Bursal V, Charon L, Morgan A, Stickgold R. The roles of item exposure and visualization success in the consolidation of memories across wake and sleep. *Learn Mem*. 2020;27:451-456.
- Diekelmann S, Born J, Wagner U. Sleep enhances false memories depending on general memory performance. *Behav Brain Res*. 2010;208:425-9.
- Djonlagic I, Rosenfeld A, Shohamy D, Myers C, Gluck M, Stickgold R. Sleep enhances category learning. *Learn Mem*. 2009;16:751-5.
- Drosopoulos S, Schulze C, Fischer S, Born J. Sleep's function in the spontaneous recovery and consolidation of memories. *J Exp Psychol Gen*. 2007;136:169-83.
- Dumay N. Sleep not just protects memories against forgetting, it also makes them more accessible. *Cortex*. 2016;74:289-96.
- Ferreira CS, Charest I, Wimber M. Retrieval aids the creation of a generalised memory trace and strengthens episode-unique information. *Neuroimage*. 2019;201:115996.
- Fogel SM, Smith CT. The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation. *Neurosci Biobehav Rev*. 2011;35:1154-65.
- Frankland PW, Bontempi B. The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6:119-30.
- Gais S, Albouy G, Boly M, Dang-Vu TT, Darsaud A, Desseilles M, Rauchs G, Schabus M, Sterpenich V, Vandewalle G, Maquet P, Peigneux P. Sleep transforms the cerebral trace of declarative memories. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:18778-83.
- Hanert A, Weber FD, Pedersen A, Born J, Bartsch T. Sleep in Humans Stabilizes Pattern Separation Performance. *J Neurosci*. 2017;37:12238-12246.
- Harvey LO Jr. The critical operating characteristic and the evaluation of expert judgment. *Organ Behav Hum Decis Process*. 1992;53:229-51.
- Helfrich RF, Mander BA, Jagust WJ, Knight RT, Walker MP. Old Brains Come Uncoupled in Sleep: Slow Wave-Spindle Synchrony, Brain Atrophy, and Forgetting. *Neuron*. 2018;97:221-230.e4.

- Himmer L, Schönauer M, Heib DPJ, Schabus M, Gais S. Rehearsal initiates systems memory consolidation, sleep makes it last. *Sci Adv*. 2019;5:eaav1695.
- Iber C, Ancoli-Israel S, Chesson AL Jr, Quan SF. American Academy of Sleep Medicine. The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: rules, terminology, and technical specification. IL: Westchester; 2007.
- Jiang X, Gonzalez-Martinez J, Halgren E. Coordination of Human Hippocampal Sharpwave Ripples during NREM Sleep with Cortical Theta Bursts, Spindles, Downstates, and Upstates. *J Neurosci*. 2019a;39:8744-61.
- Jiang X, Gonzalez-Martinez J, Halgren E. Posterior Hippocampal Spindle Ripples Co-occur with Neocortical Theta Bursts and Downstates-Upstates, and Phase-Lock with Parietal Spindles during NREM Sleep in Humans. *J Neurosci*. 2019b;39:8949-8968.
- Jin M, Glickfeld LL. Contribution of Sensory Encoding to Measured Bias. *J Neurosci*. 2019;39:5115-5127.
- Karlsson Wirebring L, Wiklund-Hörnqvist C, Eriksson J, Andersson M, Jonsson B, Nyberg L. Lesser Neural Pattern Similarity across Repeated Tests Is Associated with Better Long-Term Memory Retention. *J Neurosci*. 2015;35:9595-602.
- Karpicke JD, Lafayette W, States U. Retrieval-based Learning: a decade of progress. In: *Learning and Memory: A Comprehensive Reference*, 3<sup>rd</sup> ed. Elsevier; 2017;487-514.
- Kornell N, Bjork RA, Garcia MA. Why tests appear to prevent forgetting: A distribution-based bifurcation model. *J Mem Lang*. 2011;65:85-97.
- Kuriyama K, Stickgold R, Walker MP. Sleep-dependent learning and motor-skill complexity. *Learn Mem*. 2004;11:705-13.
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *J Statist Soft*. 2017;82.
- LaRocque KF, Smith ME, Carr VA, Witthoft N, Grill-Spector K, Wagner AD. Global similarity and pattern separation in the human medial temporal lobe predict subsequent memory. *J Neurosci*. 2013;33:5466-74.
- Latchoumane CV, Ngo HV, Born J, Shin HS. Thalamic Spindles Promote Memory Formation during Sleep through Triple Phase-Locking of Cortical, Thalamic, and Hippocampal Rhythms. *Neuron*. 2017;95:424-435.e6.
- Lewis PA, Durrant SJ. Overlapping memory replay during sleep builds cognitive schemata. *Trends Cogn Sci*. 2011;15:343-51.
- Lissek S, Kaczkurkin AN, Rabin S, Geraci M, Pine DS, Grillon C. Generalized anxiety disorder is associated with overgeneralization of classically conditioned fear. *Biol Psychiatry*. 2014;75:909-15.
- Lu Y, Wang C, Chen C, Xue G. Spatiotemporal neural pattern similarity supports episodic memory. *Curr Biol*. 2015;25:780-785.
- Maingret N, Girardeau G, Todorova R, Goutierre M, Zugaro M. Hippocampo-cortical coupling mediates memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci*. 2016;19:959-64.
- Mander BA, Zhu AH, Lindquist JR, Villeneuve S, Rao V, Lu B, Saletin JM, Ancoli-Israel S, Jagust WJ, Walker MP. White Matter Structure in Older Adults Moderates the Benefit of Sleep Spindles on Motor Memory Consolidation. *J Neurosci*. 2017;37:11675-11687.
- Mazza S, Gerbier E, Gustin MP, Kasikci Z, Koenig O, Toppino TC, Magnin M. Relearn Faster and Retain Longer. *Psychol Sci*. 2016;27:1321-1330.

- McClelland JL, McNaughton BL, O'Reilly RC. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from the successes and failures of connectionist models of learning and memory. *Psychol Rev.* 1995;102:419-457.
- McDevitt EA, Duggan KA, Mednick SC. REM sleep rescues learning from interference. *Neurobiol Learn Mem.* 2015;122:51-62.
- McKenzie S, Eichenbaum H. Consolidation and reconsolidation: two lives of memories? *Neuron.* 2011;71:224-33.
- Merhav M, Karni A, Gilboa A. Not all declarative memories are created equal: Fast Mapping as a direct route to cortical declarative representations. *Neuroimage.* 2015;117:80-92.
- Mölle M, Bergmann TO, Marshall L, Born J. Fast and slow spindles during the sleep slow oscillation: disparate coalescence and engagement in memory processing. *Sleep.* 2011;34:1411-21.
- Mölle M, Eschenko O, Gais S, Sara SJ, Born J. The influence of learning on sleep slow oscillations and associated spindles and ripples in humans and rats. *Eur J Neurosci.* 2009;29:1071-81.
- Mölle M, Marshall L, Gais S, Born J. Grouping of spindle activity during slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep. *J Neurosci.* 2002;22:10941-7.
- Muckli L, Petro LS. The Significance of Memory in Sensory Cortex. *Trends Neurosci.* 2017;40:255-256.
- Muehlroth BE, Sander MC, Fandakova Y, Grandy TH, Rasch B, Shing YL, Werkle-Bergner M. Precise Slow Oscillation-Spindle Coupling Promotes Memory Consolidation in Younger and Older Adults. *Sci Rep.* 2019;9:1940.
- Nadel L, Hupbach A, Gomez R, Newman-Smith K. Memory formation, consolidation and transformation. *Neurosci Biobehav Rev.* 2012;36:1640-5.
- Nadel L, Moscovitch M. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Curr Opin Neurobiol.* 1997;7:217-27.
- Nakagawa S, Johnson PCD, Schielzeth H. The coefficient of determination  $R^2$  and intra-class correlation coefficient from generalized linear mixed-effects models revisited and expanded. *J R Soc Interface.* 2017;14:20170213.
- Niknazar M, Krishnan GP, Bazhenov M, Mednick SC. Coupling of Thalamocortical Sleep Oscillations Are Important for Memory Consolidation in Humans. *PLoS One.* 2015;10:e0144720.
- Oudiette D, Antony JW, Creery JD, Paller KA. The role of memory reactivation during wakefulness and sleep in determining which memories endure. *J Neurosci.* 2013;33:6672-8.
- Peters KR, Smith V, Smith CT. Changes in sleep architecture following motor learning depend on initial skill level. *J Cogn Neurosci.* 2007;19:817-29.
- Petzka M, Charest I, Balanos GM, Staresina BP. Does sleep-dependent consolidation favour weak memories? *Cortex.* 2021;134:65-75.
- Poh JH, Chee MW. Degradation of neural representations in higher visual cortex by sleep deprivation. *Sci Rep.* 2017a;7:45532.
- Poh JH, Chee MWL. Degradation of cortical representations during encoding following sleep deprivation. *Neuroimage.* 2017b;153:131-138.

- Pyc MA, Rawson KA. Why testing improves memory: mediator effectiveness hypothesis. *Science*. 2010;330:335.
- R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2016.
- Rasch B, Born J. About sleep's role in memory. *Physiol Rev*. 2013;93:681-766.
- Rauchs G, Feyers D, Landeau B, Bastin C, Luxen A, Maquet P, Collette F. Sleep contributes to the strengthening of some memories over others, depending on hippocampal activity at learning. *J Neurosci*. 2011;31:2563-8.
- Ray LB, Sockeel S, Soon M, Bore A, Myhr A, Stojanoski B, Cusack R, Owen AM, Doyon J, Fogel SM. Expert and crowd-sourced validation of an individualized sleep spindle detection method employing complex demodulation and individualized normalization. *Front Hum Neurosci*. 2015;9:507.
- Rickard TC, Pan SC. A dual memory theory of the testing effect. *Psychon Bull Rev*. 2018;25:847-869.
- Robertson EM. Memory instability as a gateway to generalization. *PLoS Biol*. 2018;16:e2004633.
- Robin J, Moscovitch, M. Details, gist and schema: hippocampal-neocortical interactions underlying recent and remote episodic and spatial memory. *Curr Opin Behav Sci*. 2017;17:114-23.
- Roediger HL, Karpicke JD. Test-enhanced learning: taking memory tests improves long-term retention. *Psychol Sci*. 2006;17:249-55.
- Rowland CA. The effect of testing versus restudy on retention: a meta-analytic review of the testing effect. *Psychol Bull*. 2014;140:1432-63.
- Saletin JM, Goldstein AN, Walker MP. The role of sleep in directed forgetting and remembering of human memories. *Cereb Cortex*. 2011;21:2534-41.
- Sara SJ. Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learn Mem*. 2000a;7:73-84.
- Sara SJ. Strengthening the shaky trace through retrieval. *Nat Rev Neurosci*. 2000b;1:212-3.
- Schapiro AC, McDevitt EA, Chen L, Norman KA, Mednick SC, Rogers TT. Sleep Benefits Memory for Semantic Category Structure While Preserving Exemplar-Specific Information. *Sci Rep*. 2017;7:14869.
- Schoch SF, Cordi MJ, Rasch B. Modulating influences of memory strength and sensitivity of the retrieval test on the detectability of the sleep consolidation effect. *Neurobiol Learn Mem*. 2017;145:181-189.
- Sekeres MJ, Winocur G, Moscovitch M, Anderson JAE, Pishdadian S, Martin Wojtowicz J, St-Laurent M, McAndrews MP, Grady CL. Changes in patterns of neural activity underlie a time-dependent transformation of memory in rats and humans. *Hippocampus*. 2018;28:745-64.
- Sio UN, Monaghan P, Ormerod T. Sleep on it, but only if it is difficult: effects of sleep on problem solving. *Mem Cognit*. 2013;41:159-66.
- Sols I, DuBrow S, Davachi L, Fuentemilla L. Event Boundaries Trigger Rapid Memory Reinstatement of the Prior Events to Promote Their Representation in Long-Term Memory. *Curr Biol*. 2017;27:3499-3504.e4.

- Squire LR. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem.* 2004;82:171-7.
- Staresina BP, Bergmann TO, Bonnefond M, van der Meij R, Jensen O, Deuker L, Elger CE, Axmacher N, Fell J. Hierarchical nesting of slow oscillations, spindles and ripples in the human hippocampus during sleep. *Nat Neurosci.* 2015;18:1679-1686.
- Starita F, Kroes MCW, Davachi L, Phelps EA, Dunsmoor JE. Threat learning promotes generalization of episodic memory. *J Exp Psychol Gen.* 2019;148:1426-1434.
- Sterpenich V, Albouy G, Boly M, Vandewalle G, Darsaud A, Balteau E, Dang-Vu TT, Desseilles M, D'Argembeau A, Gais S, Rauchs G, Schabus M, Degueldre C, Luxen A, Collette F, Maquet P. Sleep-related hippocampo-cortical interplay during emotional memory recollection. *PLoS Biol.* 2007;5:e282.
- Sterpenich V, Albouy G, Darsaud A, Schmidt C, Vandewalle G, Dang Vu TT, Desseilles M, Phillips C, Degueldre C, Balteau E, Collette F, Luxen A, Maquet P. Sleep promotes the neural reorganization of remote emotional memory. *J Neurosci.* 2009;29:5143-52.
- Takashima A, Nieuwenhuis IL, Jensen O, Talamini LM, Rijpkema M, Fernández G. Shift from hippocampal to neocortical centered retrieval network with consolidation. *J Neurosci.* 2009;29:10087-93.
- Takashima A, Nieuwenhuis IL, Rijpkema M, Petersson KM, Jensen O, Fernández G (2007) Memory trace stabilization leads to large-scale changes in the retrieval network: a functional MRI study on associative memory. *Learn Mem.* 2008;14:472-9.
- Takashima A, Petersson KM, Rutters F, Tendolkar I, Jensen O, Zwarts MJ, McNaughton BL, Fernández G. Declarative memory consolidation in humans: a prospective functional magnetic resonance imaging study. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:756-61.
- Tambini A, Berners-Lee A, Davachi L. Brief targeted memory reactivation during the awake state enhances memory stability and benefits the weakest memories. *Sci Rep.* 2017;7:15325.
- Thew GR, Gregory JD, Roberts K, Rimes KA. Self-Critical Thinking and Overgeneralization in Depression and Eating Disorders: An Experimental Study. *Behav Cogn Psychother.* 2017;45:510-523.
- Urakami Y, Ioannides AA, Kostopoulos GK. Sleep spindles – as a biomarker of brain function and plasticity. In: Ajeena IH, ed. *Advances in clinical neurophysiology*; 2012.
- van de Ven GM, Trouche S, McNamara CG, Allen K, Dupret D. Hippocampal Offline Reactivation Consolidates Recently Formed Cell Assembly Patterns during Sharp Wave-Ripples. *Neuron.* 2016;92:968-974.
- van Dongen EV, Thielen JW, Takashima A, Barth M, Fernández G. Sleep supports selective retention of associative memories based on relevance for future utilization. *PLoS One.* 2012;7:e43426.
- Visser RM, Scholte HS, Beemsterboer T, Kindt M. Neural pattern similarity predicts long-term fear memory. *Nat Neurosci.* 2013;16:388-90.
- Walker S, Gaskell MG, Knowland VCP, Fletcher FE, Cairney SA, Henderson LM. Growing up with interfering neighbours: the influence of time of learning and vocabulary knowledge on written word learning in children. *R Soc Open Sci.* 2020;7:191597.
- Wamsley EJ. Memory Consolidation during Waking Rest. *Trends Cogn Sci.* 2019;23:171-173.

Warby SC, Wendt SL, Welinder P, Munk EG, Carrillo O, Sorensen HB, Jennum P, Peppard PE, Perona P, Mignot E. Sleep-spindle detection: crowdsourcing and evaluating performance of experts, non-experts and automated methods. *Nat Methods*. 2014;11:385-92.

Wilhelm I, Diekelmann S, Molzow I, Ayoub A, Mölle M, Born J. Sleep selectively enhances memory expected to be of future relevance. *J Neurosci*. 2011;31:1563-9.

Winocur G, Moscovitch M. Memory transformation and systems consolidation. *J Int Neuropsychol Soc*. 2011;17:766-80.

Xiao X, Dong Q, Chen C, Xue G. Neural pattern similarity underlies the mnemonic advantages for living words. *Cortex*. 2016;79:99-111.

Xu W, Morishita W, Buckmaster PS, Pang ZP, Malenka RC, Südhof TC. Distinct neuronal coding schemes in memory revealed by selective erasure of fast synchronous synaptic transmission. *Neuron*. 2012;73:990-1001.

Xue G, Dong Q, Chen C, Lu Z, Mumford JA, Poldrack RA. Greater neural pattern similarity across repetitions is associated with better memory. *Science*. 2010;330:97-101.

Zhang H, Fell J, Axmacher N. Electrophysiological mechanisms of human memory consolidation. *Nat Commun*. 2018;9:4103.

Zheng L, Gao Z, Xiao X, Ye Z, Chen C, Xue G. Reduced Fidelity of Neural Representation Underlies Episodic Memory Decline in Normal Aging. *Cereb Cortex*. 2018;28:2283-2296.

## Supplementary material

### Procedure

All participants were asked to follow regular sleep schedules in the week prior to the start of the experiment. Most of them slept around 7-8 h (NSD:  $7.9 \pm 0.7$ ; ASR:  $7.8 \pm 0.4$ ), went to bed between 11:30 PM and 12:30 AM (NSD:  $12:03 \text{ AM} \pm 0.3$ ; ASR:  $12:29 \text{ AM} \pm 0.4$ ), woke up between 7:20 AM and 8:30 AM (NSD:  $7.7 \text{ AM} \pm 0.8$ ; ASR:  $7.4 \pm 0.6$ ), and took about 5-10 minutes to fall sleep. No differences were found between groups for any of these parameters.

In the present study, one group of participants ( $N = 12$ ) was allowed to sleep normally (from 12:00 AM to 08:00 AM) in the night before and after training (NSD group), whereas the other group ( $N = 14$ ) underwent acute sleep restriction (ASR group) in the pre-training night (they were allowed to sleep from 04:00 AM to 08:00 AM) but slept normally in the subsequent night. During the sleep deprivation phase, participants were permitted to read, watch movies, and interact with the laboratory staff in order to stay awake.

In the evening of day 1 (05:00 PM), prior to the training phase, participants performed two tasks to familiarize themselves with the names and professions of the famous faces. Each face was presented twice for 1500 ms in the center of the screen in two consecutive blocks. In the first block, faces were followed by two names of celebrities. Subjects were asked to say which option matched the celebrity by pressing either the left or right button in the response box. After responding, only the correct option was kept on the screen. In the second block, subjects had to say if they knew the profession of the celebrity. If negative, the profession appeared in the center of the screen; if positive, subjects had to choose one option among the three possible professions. After the subject's response, only the correct option was kept in the center of the screen. Subjects were given a second chance to repeat the test for those faces whose names or professions had not been correctly recognized the first time.

Famous faces were selected by performing two pilot studies. In the first pilot study, 25 university students were presented with 426 faces of famous people (actor, singer or TV host/newsreader). For each face, participants were instructed to indicate the profession and how accessible was this semantic information by using a 5-point Likert scale. Next, 192 faces (64 for each professional category) were selected to be presented as target faces in the second pilot experiment. All of them were recognized by at least 75% of the participants. Next, we created an excel spreadsheet with information associated to each of the faces selected in the previous step. We presented this excel spreadsheet to a group of 23 additional university students, who by means of a Likert scale should indicate how familiar they thought the name of the personality was to them. In a subsequent step, they should also identify the profession among three possible options (actor, singer or TV host/newsreader). We selected the 96 celebrities (16 for each sex and profession), whose name and profession had been recognized by at least 75% of the participants.

## STPS<sub>E3-E4</sub> as a measure of neural stability at encoding

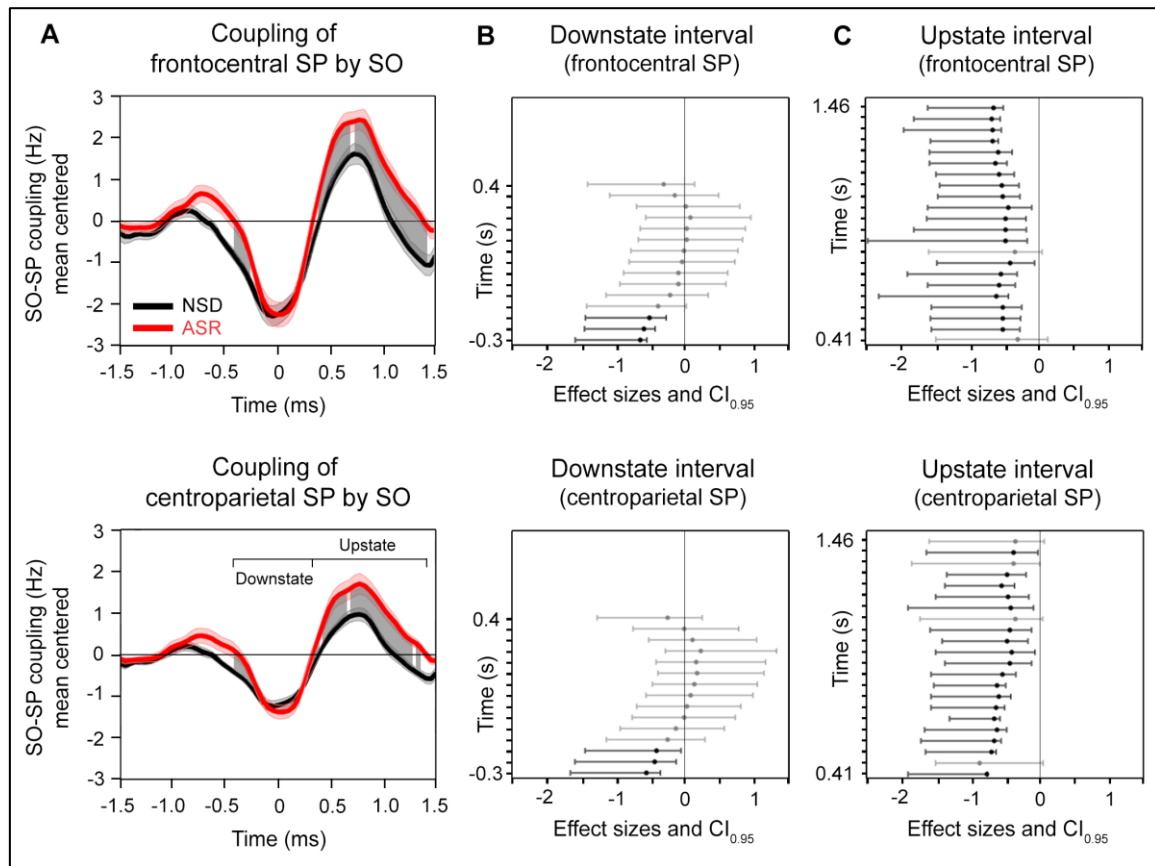
In the previous study,<sup>1</sup> we found that only stability of neural patterns between the 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> repetition of face pairs differed between the NSD and ASR group. The main effect of group was observed over ROIs 2, 3, 4 and 6 around 500-800 ms at stimulus onset ( $t_{(25)} = 3.46$ ;  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.024$ ). Additionally, we found that the stability of neural patterns within this time window not only contributed to subsequent recognition memory ( $t_{(25)} = 5.83$ ;  $p_{\text{cluster-corrected}} = 0.002$ ) but also to the SO-SP coupling during the post-training night (frontocentral SPs:  $-1.06 < [CI_{0.95}] < -0.03$ ; centroparietal SPs:  $-1.09 < [CI_{0.95}] < -0.01$ ). Consequently, in the present study, we used the mean of the cluster where STPS<sub>E3-E4</sub> was greater in the NSD group than in the ASR group as a measure of neural stability at encoding.

## Macrostructure and microstructure of sleep

As reported in the prior study,<sup>1</sup> no group differences were found for any parameter related to the macrostructure of sleep. This may have been because we did not distinguish between stage 3 and 4. Accordingly, we rejected the null hypothesis for the main effect of group for stage 4 ( $p = 0.003$ ). The percentage of stage 4 sleep was greater in the ASR group ( $24.0 \pm 4.3$ ) than in the NSD group ( $18.2 \pm 4.7$ ).

With regard to the microstructure of sleep, there were also no notable differences between groups for any parameter defining SOs and SPs. However, we found significant group differences for the SO-SP coupling. Figure S1A shows the event correlation histogram between SOs and SPs localized in both frontocentral and centroparietal electrodes for the NSD and ASR group. With reference to the negative half-wave peak of the SOs, SPs were suppressed around the downstate and increased during the upstate in the two groups. Group differences were found for most time points (confidence intervals did not include 0) in the SO upstate interval (Figure S1C) but not in the downstate period (Figure S1B), regardless of whether SPs were detected over frontocentral (effect sizes ranged from 0.35 to 0.65) or centroparietal electrodes (effect sizes ranged from 0.38 to 0.88).





**Figure S1. Effect of sleep restriction on SO-SP coupling.** (A) Event correlation histogram between frontocentral SOs and fast SPs localized in frontocentral (top) and centroparietal electrodes (bottom) for the NSD group (black line) and ASR group (red line). The vertical gray bars indicate between-group differences across time based on significant effect sizes. (B) Effect sizes (Hedges's  $d$ ) and  $CI_{0.95}$  during the SO downstate for frontocentral (top) and centroparietal SPs (bottom). (C) The same as in B for the SO upstate.

## References

Baena D, Cantero JL, Fuentemilla L, Atienza M. Weakly encoded memories due to acute sleep restriction can be rescued after one night of recovery sleep. *Sci Rep.* 2020;10:144

Regression of STPS<sub>E3-E4</sub>, SO-SP coupling, and repeated testing on STPS<sub>E-R</sub>Table S1 Mixed-effects regression of STPS<sub>E3-E4</sub>, SO-SP coupling, repeated testing and ROI on categorical STPS<sub>E-R</sub>

Predictors	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4		
	Estimate	CI	p	Estimate	CI	p	Estimate	CI	p	Estimate	CI	p
(Intercept)	0.07	0.00 – 0.13	0.052	0.14	0.06 – 0.21	<b>0.001</b>	0.14	0.06 – 0.21	<b>0.001</b>	0.14	0.06 – 0.21	<b>0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub>	-0.61	-0.73 – -0.49	<b>&lt;0.001</b>	-0.38	-0.64 – -0.12	<b>0.005</b>	-0.45	-0.82 – -0.09	<b>0.016</b>	-0.46	-0.83 – -0.09	<b>0.014</b>
SO-SP	0.00	-0.04 – 0.03	0.083	-0.03	-0.07 – 0.01	0.099	-0.02	-0.07 – 0.02	0.309	-0.03	-0.07 – 0.02	0.269
R3	-0.07	-0.10 – -0.04	<b>&lt;0.001</b>	-0.24	-0.31 – -0.16	<b>&lt;0.001</b>	-0.24	-0.31 – -0.16	<b>&lt;0.001</b>	-0.24	-0.31 – -0.16	<b>&lt;0.001</b>
R4	0.03	0.00 – 0.06	0.088	-0.01	-0.09 – 0.06	0.748	-0.02	-0.09 – 0.06	0.678	-0.02	-0.09 – 0.06	0.644
ROI2	-0.10	-0.14 – -0.05	<b>&lt;0.001</b>	-0.11	-0.18 – -0.03	<b>0.004</b>	-0.10	-0.17 – -0.03	<b>0.008</b>	-0.10	-0.17 – -0.02	<b>0.010</b>
ROI3	-0.13	-0.17 – -0.08	<b>&lt;0.001</b>	-0.19	-0.26 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>	-0.18	-0.26 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>	-0.18	-0.26 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>
ROI4	-0.14	-0.19 – -0.10	<b>&lt;0.001</b>	-0.36	-0.43 – -0.28	<b>&lt;0.001</b>	-0.35	-0.42 – -0.27	<b>&lt;0.001</b>	-0.34	-0.42 – -0.27	<b>&lt;0.001</b>
ROI5	0.08	0.03 – 0.12	<b>0.001</b>	-0.09	-0.16 – -0.01	<b>0.021</b>	-0.09	-0.16 – -0.01	<b>0.021</b>	-0.09	-0.17 – -0.02	<b>0.013</b>
ROI6	-0.01	-0.06 – 0.03	0.544	0.06	-0.01 – 0.14	0.095	0.06	-0.01 – 0.14	0.105	0.06	-0.01 – 0.14	0.105
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP				0.04	-0.04 – 0.12	0.314	0.03	-0.15 – 0.22	0.731	0.13	-0.13 – 0.40	0.327
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3				-0.05	-0.28 – 0.17	0.651	-0.14	-0.64 – 0.36	0.584	-0.15	-0.65 – 0.35	0.560

STPS <sub>E3-E4</sub> *R4	-0.88	-1.11 – -0.66	<b>&lt;0.001</b>	-0.55	-1.05 – -0.05	<b>0.030</b>	-0.52	-1.02 – -0.02	<b>0.042</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI2	-0.21	-0.52 – 0.09	0.168	-0.69	-1.21 – -0.17	<b>0.009</b>	-0.76	-1.29 – -0.23	<b>0.005</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI3	1.53	1.15 – 1.91	<b>&lt;0.001</b>	1.60	0.96 – 2.23	<b>&lt;0.001</b>	1.61	0.98 – 2.25	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI4	0.54	0.17 – 0.91	<b>0.004</b>	1.92	1.32 – 2.53	<b>&lt;0.001</b>	1.89	1.28 – 2.49	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI5	0.19	-0.13 – 0.52	0.239	-0.60	-1.15 – -0.06	<b>0.030</b>	-0.52	-1.07 – 0.03	0.063
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI6	-0.76	-1.04 – -0.47	<b>&lt;0.001</b>	-0.42	-0.91 – 0.06	0.086	-0.36	-0.85 – 0.13	0.148
SO-SP*R3	0.00	-0.02 – 0.02	0.928	0.00	-0.05 – 0.04	0.924	0.00	-0.05 – 0.04	0.845
SO-SP*R4	0.01	-0.01 – 0.02	0.535	-0.02	-0.06 – 0.03	0.466	-0.01	-0.05 – 0.04	0.737
SO-SP*ROI2	0.06	0.03 – 0.08	<b>&lt;0.001</b>	0.04	-0.01 – 0.08	0.122	0.04	-0.01 – 0.08	0.101
SO-SP*ROI3	0.05	0.03 – 0.08	<b>&lt;0.001</b>	0.06	0.01 – 0.10	<b>0.020</b>	0.06	0.01 – 0.11	<b>0.015</b>
SO-SP*ROI4	0.02	-0.01 – 0.05	0.171	0.01	-0.03 – 0.06	0.558	0.02	-0.03 – 0.06	0.466
SO-SP*ROI5	0.05	0.03 – 0.08	<b>&lt;0.001</b>	0.03	-0.02 – 0.07	0.257	0.03	-0.02 – 0.07	0.225
SO-SP*ROI6	0.02	-0.01 – 0.05	0.147	0.03	-0.02 – 0.08	0.189	0.03	-0.01 – 0.08	0.148
R3*ROI2	0.20	0.09 – 0.31	<b>&lt;0.001</b>	0.20	0.10 – 0.31	<b>&lt;0.001</b>	0.20	0.09 – 0.30	<b>&lt;0.001</b>
R4*ROI2	-0.16	-0.26 – -0.05	<b>0.004</b>	-0.17	-0.27 – -0.06	<b>0.002</b>	-0.17	-0.28 – -0.06	<b>0.002</b>

R3*ROI3		0.09	-0.02 – 0.19	0.110	0.09	-0.02 – 0.19	0.112	0.08	-0.03 – 0.18	0.162
R4*ROI3		0.16	0.05 – 0.27	<b>0.003</b>	0.16	0.05 – 0.27	<b>0.003</b>	0.17	0.06 – 0.27	<b>0.003</b>
R3*ROI4		0.43	0.33 – 0.54	<b>&lt;0.001</b>	0.43	0.32 – 0.53	<b>&lt;0.001</b>	0.42	0.31 – 0.53	<b>&lt;0.001</b>
R4*ROI4		0.23	0.12 – 0.34	<b>&lt;0.001</b>	0.20	0.09 – 0.30	<b>&lt;0.001</b>	0.19	0.09 – 0.30	<b>&lt;0.001</b>
R3*ROI5		0.35	0.25 – 0.46	<b>&lt;0.001</b>	0.35	0.25 – 0.46	<b>&lt;0.001</b>	0.36	0.25 – 0.46	<b>&lt;0.001</b>
R4*ROI5		0.14	0.03 – 0.24	<b>0.012</b>	0.13	0.02 – 0.23	<b>0.019</b>	0.14	0.04 – 0.25	<b>0.009</b>
R3*ROI6		-0.08	-0.19 – 0.03	0.137	-0.08	-0.19 – 0.02	0.115	-0.09	-0.19 – 0.02	0.112
R4*ROI6		-0.13	-0.24 – -0.03	<b>0.013</b>	-0.12	-0.23 – -0.02	<b>0.024</b>	-0.12	-0.23 – -0.02	<b>0.025</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3					0.09	-0.06 – 0.24	0.223	0.20	-0.16 – 0.57	0.279
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4					-0.27	-0.42 – -0.12	<b>&lt;0.001</b>	-0.69	-1.05 – -0.32	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI2					0.36	0.15 – 0.57	<b>0.001</b>	0.40	0.04 – 0.75	<b>0.029</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI3					0.14	-0.12 – 0.39	0.292	0.08	-0.34 – 0.50	0.711
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI4					0.05	-0.19 – 0.28	0.710	0.07	-0.32 – 0.46	0.709
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI5					-0.11	-0.33 – 0.12	0.361	-0.05	-0.89 – -0.12	<b>0.010</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI6					-0.04	-0.24 – 0.16	0.675	-0.25	-0.60 – 0.09	0.149

STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI2		-0.07	-0.79 – 0.65	0.851	0.00	-0.74 – 0.74	0.993
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI2		0.94	0.22 – 1.65	<b>0.010</b>	1.08	0.34 – 1.82	<b>0.004</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI3		-0.06	-0.92 – 0.81	0.900	-0.11	-0.98 – 0.77	0.808
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI3		-0.10	-0.97 – 0.77	0.827	-0.10	-0.98 – 0.77	0.819
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI4		-1.11	-1.93 – -0.28	<b>0.009</b>	-1.04	-1.87 – -0.21	<b>0.015</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI4		-3.02	-3.85 – -2.20	<b>&lt;0.001</b>	-2.97	-3.81 – -2.14	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI5		0.77	0.00 – 1.53	<b>0.049</b>	0.70	-0.07 – 1.47	0.073
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI5		1.72	0.96 – 2.49	<b>&lt;0.001</b>	1.53	0.77 – 2.30	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI6		0.41	-0.27 – 1.09	0.236	0.39	-0.30 – 1.08	0.271
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI6		-1.27	-1.94 – -0.59	<b>&lt;0.001</b>	-1.43	-2.12 – -0.74	<b>&lt;0.001</b>
SO-SP*R3*ROI2		0.02	-0.08 – 0.05	0.562	-0.02	-0.08 – 0.05	0.612
SO-SP*R4*ROI2		0.08	0.01 – 0.14	<b>0.016</b>	0.07	0.01 – 0.14	<b>0.034</b>
SO-SP*R3*ROI3		-0.02	-0.09 – 0.04	0.468	-0.03	-0.10 – 0.04	0.389
SO-SP*R4*ROI3		0.02	-0.05 – 0.09	0.545	0.01	-0.05 – 0.08	0.668
SO-SP*R3*ROI4		0.02	-0.04 – 0.09	0.534	0.02	-0.04 – 0.09	0.518

SO-SP*R4*ROI4		-0.01	-0.08 – 0.05	0.747	-0.02	-0.09 – 0.04	0.512
SO-SP*R3*ROI5		0.02	-0.04 – 0.09	0.452	0.03	-0.04 – 0.09	0.408
SO-SP*R4*ROI5		0.06	-0.01 – 0.12	0.095	0.05	-0.02 – 0.11	0.161
SO-SP*R3*ROI6		-0.01	-0.07 – 0.05	0.761	-0.01	-0.07 – 0.06	0.805
SO-SP*R4*ROI6		-0.02	-0.09 – 0.04	0.462	-0.04	-0.10 – 0.03	0.280
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI2					-0.22	-0.72 – 0.28	0.392
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI2					0.11	-0.39 – 0.60	0.675
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI3					-0.36	-0.94 – 0.21	0.218
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI3					0.53	-0.05 – 1.11	0.071
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI4					-0.27	-0.80 – 0.26	0.324
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI4					0.18	-0.35 – 0.71	0.503
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI5					0.17	-0.36 – 0.71	0.524
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI5					1.02	0.49 – 1.55	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI6					-0.05	-0.53 – 0.43	0.838
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI6					0.68	0.20 – 1.16	<b>0.006</b>

**Random Effects**

AIC	50290	49864	49657	49648
$\sigma^2$	0.78	0.76	0.75	0.75
$\tau_{00, \text{Time:Participant}}$	0.18	0.19	0.19	0.19
$\tau_{00, \text{Participant}}$	0.02	0.02	0.02	0.02
$N_{\text{Time}}$	40	40	40	40
$N_{\text{Participant}}$	26	26	26	26
ICC <sub>Participant</sub>	0.20	0.21	0.21	0.21
Observations	18720	18720	18720	18720
$R^2 / \Omega_0^2$	0.014 / 0.216	0.036 / 0.239	0.047 / 0.250	0.048 / 0.251

Reference category for repeated testing (R2) / Reference category for ROI (ROI1)

Abbreviations: AIC, Akaikes's information criterion; CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient; ROI, region of interest

**Table S2 Mixed-effects regression of STPS<sub>E3-E4</sub>, SO-SP coupling, repeated testing and ROI on specific STPS<sub>E-R</sub>**

<i>Predictors</i>	<b>Model 1</b>			<b>Model 2</b>			<b>Model 3</b>			<b>Model 4</b>		
	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	0.017	0.09 – 0.24	<b>&lt;0.001</b>	0.18	0.09 – 0.27	<b>&lt;0.001</b>	0.18	0.09 – 0.27	<b>&lt;0.001</b>	0.17	0.09 – 0.26	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub>	-0.28	-0.40 – -0.16	<b>&lt;0.001</b>	-0.83	-1.11 – -0.56	<b>&lt;0.001</b>	-0.46	-0.84 – -0.08	0.018	-0.40	-0.78 – -0.02	0.038
SO-SP coupling	0.01	-0.03 – 0.05	0.704	-0.00	-0.05 – 0.04	0.845	-0.01	-0.07 – 0.04	0.693	0.00	-0.05 – 0.06	0.860
R3	0.01	-0.02 – 0.04	0.501	-0.08	-0.16 – -0.00	<b>0.043</b>	-0.08	-0.16 – 0.00	<b>0.051</b>	-0.07	-0.15 – 0.00	<b>0.060</b>
R4	0.04	0.01 – 0.07	<b>0.021</b>	0.10	0.02 – 0.18	<b>0.010</b>	0.11	0.03 – 0.19	<b>0.007</b>	0.11	0.04 – 0.19	<b>0.004</b>
ROI2	-0.35	-0.40 – -0.30	<b>&lt;0.001</b>	-0.34	-0.41 – -0.26	<b>&lt;0.001</b>	-0.32	-0.40 – -0.25	<b>&lt;0.001</b>	-0.32	-0.40 – -0.24	<b>&lt;0.001</b>
ROI3	-0.27	-0.31 – -0.22	<b>&lt;0.001</b>	-0.27	-0.35 – -0.19	<b>&lt;0.001</b>	-0.27	-0.35 – -0.19	<b>&lt;0.001</b>	-0.27	-0.34 – -0.19	<b>&lt;0.001</b>
ROI4	-0.23	-0.27 – -0.18	<b>&lt;0.001</b>	-0.23	-0.31 – -0.15	<b>&lt;0.001</b>	-0.25	-0.33 – -0.17	<b>&lt;0.001</b>	-0.24	-0.32 – -0.16	<b>&lt;0.001</b>
ROI5	-0.22	-0.26 – -0.17	<b>&lt;0.001</b>	-0.19	-0.27 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>	-0.18	-0.26 – -0.10	<b>&lt;0.001</b>	-0.16	-0.24 – -0.08	<b>&lt;0.001</b>
ROI6	-0.05	-0.09 – -0.00	<b>0.037</b>	-0.12	-0.20 – -0.04	<b>0.002</b>	-0.12	-0.20 – -0.04	<b>0.003</b>	-0.12	-0.19 – -0.04	<b>0.003</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP				0.11	0.03 – 0.19	<b>0.008</b>	0.12	-0.07 – 0.32	0.210	-0.59	-0.87 – -0.32	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3				-0.06	-0.30 – 0.17	0.602	-0.77	-1.29 – -0.25	<b>0.004</b>	-0.83	-1.35 – -0.31	<b>0.002</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4				0.82	0.58 – 1.05	<b>&lt;0.001</b>	0.48	-0.04 – 1.01	0.069	0.37	-0.15 – 0.89	0.160



STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI2	-0.34	-0.66 – -0.02	<b>0.036</b>	-1.42	-1.96 – -0.87	<b>&lt;0.001</b>	-1.47	-2.02 – -0.92	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI3	1.06	0.66 – 1.46	<b>&lt;0.001</b>	1.47	0.81 – 2.13	<b>&lt;0.001</b>	1.42	0.77 – 2.08	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI4	0.44	0.06 – 0.83	0.025	-0.21	-0.84 – 0.42	0.520	-0.32	-0.95 – 0.31	0.326
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI5	0.36	0.02 – 0.70	<b>0.039</b>	0.02	-0.55 – 0.60	0.933	-0.25	-0.82 – 0.32	0.394
STPS <sub>E3-E4</sub> *ROI6	0.50	0.21 – 0.80	<b>0.001</b>	-0.05	-0.55 – 0.46	0.862	-0.04	-0.55 – 0.47	0.880
SO-SP*R3	0.02	0.00 – 0.04	<b>0.031</b>	0.05	0.00 – 0.10	<b>0.035</b>	0.03	-0.01 – 0.08	0.167
SO-SP*R4	-0.02	-0.04 – -0.00	<b>0.025</b>	-0.04	-0.08 – 0.01	0.141	-0.07	-0.11 – -0.02	<b>0.007</b>
SO-SP*ROI2	-0.01	-0.03 – 0.02	0.667	0.01	-0.04 – 0.05	0.831	-0.01	-0.06 – 0.04	0.666
SO-SP*ROI3	0.04	0.01 – 0.07	<b>0.007</b>	0.03	-0.02 – 0.08	0.226	0.02	-0.03 – 0.07	0.525
SO-SP*ROI4	0.06	0.03 – 0.09	<b>&lt;0.001</b>	0.01	-0.04 – 0.06	0.703	-0.01	-0.06 – 0.04	0.748
SO-SP*ROI5	0.01	-0.02 – 0.04	0.514	0.04	-0.01 – 0.09	0.116	0.02	-0.02 – 0.07	0.338
SO-SP*ROI6	-0.02	-0.04 – 0.01	0.292	0.03	-0.02 – 0.07	0.289	0.01	-0.04 – 0.06	0.639
R3*ROI2	0.10	-0.01 – 0.21	0.077	0.08	-0.03 – 0.19	0.145	0.07	-0.04 – 0.18	0.201
R4*ROI2	-0.14	-0.25 – -0.02	<b>0.018</b>	-0.13	-0.24 – -0.02	<b>0.018</b>	-0.13	-0.24 – -0.02	<b>0.018</b>
R3*ROI3	0.18	0.08 – 0.29	<b>0.001</b>	0.16	0.05 – 0.27	<b>0.005</b>	0.15	0.04 – 0.26	<b>0.007</b>

R4*ROI3	-0.13	-0.24 – -0.01	<b>0.028</b>	-0.15	-0.26 – -0.04	<b>0.008</b>	-0.16	-0.27 – -0.05	<b>0.005</b>
R3*ROI4	0.05	-0.06 – 0.16	0.396	0.04	-0.07 – 0.15	0.513	0.07	-0.04 – 0.18	0.244
R4*ROI4	-0.03	-0.14 – 0.08	0.638	-0.01	-0.12 – 0.10	0.849	-0.07	-0.18 – 0.05	0.250
R3*ROI5	0.10	-0.01 – 0.22	0.069	0.09	-0.02 – 0.20	0.109	0.07	-0.04 – 0.18	0.232
R4*ROI5	-0.19	-0.30 – -0.08	<b>0.001</b>	-0.18	-0.29 – -0.07	<b>0.001</b>	-0.22	-0.33 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>
R3*ROI6	0.12	0.01 – 0.23	<b>0.033</b>	0.12	0.01 – 0.23	<b>0.029</b>	0.12	0.01 – 0.23	<b>0.032</b>
R4*ROI6	0.08	-0.03 – 0.20	0.136	0.07	-0.04 – 0.18	0.202	0.06	-0.05 – 0.17	0.251
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3				-0.49	-0.65 – -0.34	<b>&lt;0.001</b>	0.31	-0.08 – 0.69	0.116
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4				0.55	0.39 – 0.71	<b>&lt;0.001</b>	1.91	1.52 – 2.29	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI2				0.26	0.04 – 0.48	<b>0.022</b>	0.97	0.60 – 1.34	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI3				-0.44	-0.70 – -0.18	<b>0.001</b>	0.33	-0.11 – 0.76	0.140
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI4				-0.47	-0.72 – -0.22	<b>&lt;0.001</b>	0.38	-0.02 – 0.79	0.061
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI5				0.14	-0.10 – 0.37	0.263	1.68	1.28 – 2.08	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ROI6				0.16	-0.05 – 0.37	0.127	0.75	0.39 – 1.11	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI2				1.89	1.14 – 2.64	<b>&lt;0.001</b>	2.17	1.40 – 2.94	<b>&lt;0.001</b>

STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI2		0.83	0.08 – 1.58	<b>0.030</b>	0.72	-0.05 – 1.49	0.066
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI3		0.48	-0.43 – 1.39	0.302	0.53	-0.38 – 1.44	0.253
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI3		-2.03	-2.94 – -1.12	<b>&lt;0.001</b>	-1.95	-2.86 – -1.04	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI4		2.16	1.29 – 3.02	<b>&lt;0.001</b>	1.92	1.05 – 2.79	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI4		0.06	-0.81 – 0.92	0.898	0.62	-0.25 – 1.49	0.163
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI5		0.61	-0.19 – 1.41	0.132	0.92	0.12 – 1.72	<b>0.024</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI5		0.18	-0.62 – 0.98	0.653	0.69	-0.1 – 1.49	0.093
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ROI6		0.51	-0.20 – 1.22	0.157	0.66	-0.06 – 1.38	0.071
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ROI6		0.86	0.15 – 1.57	<b>0.018</b>	0.69	-0.03 – 1.41	0.060
SO-SP*R3*ROI2		-0.06	-0.13 – 0.00	0.065	-0.05	-0.11 – 0.02	0.179
SO-SP*R4*ROI2		0.03	-0.03 – 0.10	0.338	0.06	-0.00 – 0.13	0.067
SO-SP*R3*ROI3		-0.01	-0.08 – 0.06	0.745	0.00	-0.07 – 0.07	0.900
SO-SP*R4*ROI3		0.00	-0.06 – 0.07	0.890	0.03	-0.04 – 0.10	0.371
SO-SP*R3*ROI4		0.07	-0.00 – 0.14	0.051	0.09	0.03 – 0.16	<b>0.007</b>
SO-SP*R4*ROI4		0.08	0.01 – 0.14	<b>0.030</b>	0.09	0.03 – 0.16	<b>0.007</b>

SO-SP*R3*ROI5		-0.11	-0.18 – -0.05	<b>0.001</b>	-0.10	-0.07 – -0.03	<b>0.005</b>
SO-SP*R4*ROI5		0.03	-0.04 – 0.10	0.401	0.06	-0.01 – 0.13	0.096
SO-SP*R3*ROI6		-0.04	-0.11 – 0.03	0.249	-0.02	-0.09 – 0.05	0.552
SO-SP*R4*ROI6		-0.09	-0.15 – -0.02	<b>0.012</b>	-0.06	-0.13 – 0.01	0.070
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI2					-1.16	-1.68 – -0.64	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI2					-0.98	-1.50 – -0.46	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI3					-0.85	-1.45 – -0.25	<b>0.005</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI3					-1.45	-2.05 – -0.85	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI4					0.04	-0.52 – 0.59	0.891
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI4					-2.61	-3.16 – -2.06	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI5					-1.75	-2.31 – -1.20	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI5					-2.88	-3.44 – -2.33	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ROI6					-0.97	-1.47 – -0.47	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ROI6					-0.79	-1.29 – -0.29	<b>0.002</b>

#### Random Effects

AIC	51464	51257	50908	50681
$\sigma^2$	0.86	0.84	0.82	0.81
$\tau_{00, \text{Time:Participant}}$	0.10	0.10	0.10	0.11
$\tau_{00, \text{Participant}}$	0.03	0.03	0.03	0.03
$N_{\text{Time}}$	40	40	40	40
$N_{\text{Participant}}$	26	26	26	26
ICC <sub>Participant</sub>	0.13	0.13	0.14	0.14
Observations	18720	18720	18720	18720
$R^2 / \Omega_0^2$	0.017 / 0.145	0.029 / 0.159	0.047 / 0.180	0.058 / 0.192

Reference category for repeated testing (R2) / Reference category for ROI (ROI1)

Abbreviations: AIC, Akaike's information criterion; CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient; ROI, region of interest

**Table S3 Mixed-effects regression of STPS<sub>E3-E4</sub>, SO-SP coupling, repeated testing and group on categorical STPS<sub>E-R</sub> in ROI1 (left frontal)**

<i>Predictors</i>	<b>Model 1</b>			<b>Model 2</b>			<b>Model 3</b>			<b>Model 4</b>		
	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	0.20	0.07 – 0.34	<b>0.003</b>	0.16	0.03 – 0.30	<b>0.020</b>	0.11	0.03 – 0.25	0.118	0.12	-0.02 – 0.26	0.104
STPS <sub>E3-E4</sub>	-0.87	-1.15 – -0.60	<b>&lt;0.001</b>	-0.66	-1.10 – -0.22	<b>0.003</b>	-0.69	-1.13 – -0.25	<b>0.002</b>	-1.01	-1.49 – -0.53	<b>&lt;0.001</b>
SO-SP	-0.02	-0.07 – 0.03	0.437	-0.10	-0.19 – -0.01	<b>0.034</b>	-0.21	-0.31 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>	-0.21	-0.31 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>
R3	-0.24	-0.31 – -0.17	<b>&lt;0.001</b>	-0.27	-0.38 – -0.17	<b>&lt;0.001</b>	-0.23	-0.33 – -0.12	<b>&lt;0.001</b>	-0.23	-0.34 – -0.12	<b>&lt;0.001</b>
R4	-0.02	-0.09 – 0.05	0.594	0.01	-0.09 – 0.12	0.821	0.11	0.00 – 0.22	<b>0.050</b>	0.10	-0.01 – 0.21	0.063
ASR	-0.12	-0.30 – 0.06	0.180	-0.10	-0.28 – 0.09	0.294	-0.07	-0.26 – 0.12	0.479	-0.07	-0.26 – 0.12	0.453
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP				0.08	-0.12 – 0.27	0.430	0.50	0.18 – 0.82	<b>0.002</b>	0.59	0.23 – 0.94	<b>0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3				-0.12	-0.59 – 0.35	0.615	-0.12	-0.58 – 0.34	<b>0.605</b>	0.47	-0.10 – 1.04	0.106
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4				-0.58	-1.05 – -0.12	0.015	-0.50	-0.96 – -0.03	<b>0.036</b>	-0.14	-0.71 – 0.44	0.639
STPS <sub>E3-E4</sub> *ASR				0.05	-0.51 – 0.62	0.853	0.10	-0.47 – 0.66	0.741	1.01	0.21 – 1.80	<b>0.013</b>
SO-SP*R3				-0.01	-0.05 – 0.04	0.804	0.08	0.00 – 0.16	<b>0.045</b>	0.10	0.02 – 0.18	<b>0.018</b>
SO-SP*R4				-0.02	-0.06 – 0.03	0.414	0.19	0.11 – 0.27	<b>&lt;0.001</b>	0.19	0.11 – 0.27	<b>&lt;0.001</b>

SO-SP*ASR		0.12	0.02 – 0.23	<b>0.022</b>	0.28	0.15 – 0.40	<b>&lt;0.001</b>	0.28	0.16 – 0.40	<b>&lt;0.001</b>
R3*ASR		0.06	-0.08 – 0.21	0.408	0.04	-0.11 – 0.18	0.635	0.04	-0.10 – 0.19	0.571
R4*ASR		-0.05	-0.20 – 0.10	0.506	-0.11	-0.26 – 0.03	0.135	-0.11	-0.25 – 0.04	0.154
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3					0.15	-0.19 – 0.50	0.373	-0.18	-0.60 – 0.25	0.420
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4					-0.79	-1.13 – -0.45	<b>&lt;0.001</b>	-0.73	-1.16 – -0.31	<b>0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ASR					-0.49	-0.89 – -0.10	<b>0.014</b>	-0.76	-1.33 – -0.20	<b>0.008</b>
SO-SP*R3*ASR					-0.13	-0.23 – -0.04	<b>0.006</b>	-0.15	-0.25 – -0.06	<b>0.002</b>
SO-SP*R4*ASR					-0.29	-0.38 – -0.19	<b>&lt;0.001</b>	-0.28	-0.38 – -0.19	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ASR								-1.73	-2.69 – -0.77	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ASR								-1.00	-1.97 – -0.04	<b>0.041</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ASR								0.95	0.25 – 1.65	<b>0.008</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ASR								-0.13	-0.83 – 0.57	0.713
<b>Random Effects</b>										
AIC	8177	8179			8120			8106		
$\sigma^2$	0.66	0.66			0.64			0.63		

$\tau_{00, \text{Time:Participant}}$	0.15	0.15	0.16	0.16
$\tau_{00, \text{Participant}}$	0.04	0.03	0.03	0.03
$N_{\text{Time}}$	40	40	40	40
$N_{\text{Participant}}$	26	26	26	26
ICC Participant	0.22	0.22	0.23	0.23
Observations	3120	3120	3120	3120
$R^2 / \Omega_0^2$	0.038 / 0.252	0.049 / 0.255	0.066 / 0.279	0.071 / 0.287

---

Reference category for repeated testing (R2) / Reference category for group (NSD)

Abbreviations: AIC, Akaike's information criterion; CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient; ROI, region of interest



**Table S4 Mixed-effects regression of STPS<sub>E3-E4</sub>, SO-SP coupling, repeated testing and group on specific STPS<sub>E-R</sub> in ROI1 (left frontal)**

<i>Predictors</i>	<b>Model 1</b>			<b>Model 2</b>			<b>Model 3</b>			<b>Model 4</b>		
	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Estimate</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>
(Intercept)	0.18	-0.01 – 0.37	0.067	0.03	-0.17 – 0.22	0.786	0.06	-0.13 – 0.26	0.517	0.06	-0.13 – 0.26	0.525
STPS <sub>E3-E4</sub>	-1.00	-1.30 – -0.70	<b>&lt;0.001</b>	-0.40	-0.89 – 0.09	0.112	-0.33	-0.82 – 0.16	0.184	-0.37	-0.91 – 0.16	0.172
SO-SP	-0.00	-0.08 – 0.08	0.933	-0.16	-0.30 – -0.03	<b>0.016</b>	-0.06	-0.20 – 0.08	0.364	-0.07	-0.21 – 0.06	0.293
R3	-0.08	-0.17 – 0.00	0.055	-0.00	-0.13 – 0.12	0.947	-0.04	-0.07 – 0.09	0.559	-0.03	-0.15 – 0.10	0.682
R4	0.11	0.03 – 0.19	<b>0.010</b>	0.26	0.14 – 0.39	<b>&lt;0.001</b>	0.19	0.06 – 0.32	<b>0.004</b>	0.18	0.05 – 0.31	<b>0.005</b>
ASR	0.00	-0.26 – 0.26	0.988	0.19	-0.07 – 0.45	0.151	0.17	-0.09 – 0.43	0.213	0.17	-0.09 – 0.43	0.209
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP				0.32	0.11 – 0.53	<b>0.002</b>	-0.62	-0.98 – -0.26	<b>0.001</b>	-0.38	-0.77 – 0.02	0.059
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3				-0.83	-1.39 – -0.28	<b>0.003</b>	-0.87	-1.41 – -0.33	<b>0.002</b>	-1.09	-1.75 – -0.43	<b>0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4				0.48	-0.08 – 1.03	0.092	0.30	-0.25 – 0.84	0.283	0.64	-0.02 – 1.31	0.056
STPS <sub>E3-E4</sub> *ASR				-1.29	-1.90 – -0.69	<b>&lt;0.001</b>	-1.33	-1.94 – -0.72	<b>&lt;0.001</b>	-1.17	-2.06 – -0.29	<b>0.009</b>
SO-SP*R3				0.05	-0.00 – 0.11	0.053	-0.02	-0.12 – 0.07	0.623	0.02	-0.08 – 0.11	0.740
SO-SP*R4				0.00	-0.05 – 0.05	0.954	-0.20	-0.29 – -0.10	<b>&lt;0.001</b>	-0.21	-0.30 – -0.11	<b>&lt;0.001</b>

SO-SP*ASR		0.20	0.04 – 0.36	<b>0.013</b>	0.08	-0.09 – 0.25	0.351	0.10	-0.07 – 0.27	0.266
R3*ASR		-0.13	-0.31 – 0.04	0.136	-0.11	-0.28 – 0.06	0.204	-0.12	-0.29 – 0.05	0.165
R4*ASR		-0.29	-0.46 – -0.11	<b>0.001</b>	-0.23	-0.40 – -0.06	<b>0.007</b>	-0.23	-0.40 – -0.06	<b>0.008</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3					0.34	-0.06 – 0.74	0.095	-0.61	-1.10 – -0.12	<b>0.016</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4					1.98	1.58 – 2.38	<b>&lt;0.001</b>	2.20	1.71 – 2.70	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*ASR					0.41	-0.02 – 0.83	0.060	-0.26	-0.89 – 0.38	0.427
SO-SP*R3*ASR					0.10	-0.01 – 0.21	0.077	0.04	-0.07 – 0.15	0.481
SO-SP*R4*ASR					0.23	0.12 – 0.34	<b>&lt;0.001</b>	0.24	0.13 – 0.35	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *R3*ASR								0.48	-0.63 – 1.59	0.399
STPS <sub>E3-E4</sub> *R4*ASR								-0.95	-2.06 – 0.16	0.095
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R3*ASR								2.55	1.74 – 3.36	<b>&lt;0.001</b>
STPS <sub>E3-E4</sub> *SO-SP*R4*ASR								-0.57	-1.38 – 0.24	0.170
<b>Random Effects</b>										
AIC	9079	9028			8920			8855		

$\sigma^2$	0.95	0.93	0.88	0.85
$\tau_{00, \text{Time:Participant}}$	0.11	0.11	0.13	0.14
$\tau_{00, \text{Participant}}$	0.09	0.08	0.08	0.08
$N_{\text{Time}}$	40	40	40	40
$N_{\text{Participant}}$	26	26	26	26
ICC <sub>Participant</sub>	0.18	0.17	0.19	0.20
Observations	3120	3120	3120	3120
$R^2 / \Omega_0^2$	0.024 / 0.200	0.058 / 0.217	0.088 / 0.258	0.105 / 0.284

Reference category for repeated testing (R2) / Reference category for group (NSD)

Abbreviations: AIC, Akaike's information criterion; CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient; ROI, region of interest